

Disaccharidasen der Dünndarmschleim- haut unter Cytosin - Arabinosid - Behandlung

Experimentelle Untersuchungen am Rattendarm

von

Herma Maximiliane Maria Gerngroß - Hell, geb. Hell

aus

Ingolstadt

1976 № 327



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546220_0085

Aus der Medizinischen Klinik mit Poliklinik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: ProfessorDr. L. Demling

Disaccharidasen der Dünndarmschleim- haut unter Cytosin - Arabinosid- Behandlung

Experimentelle Untersuchungen am Rattendarm

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
dem Fachbereich Medizin
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg**

vorgelegt

von

Herma Maximiliane Maria Gerngroß - Hell, geb. Hell

aus

Ingolstadt

Gedruckt mit Erlaubnis des Fachbereichs Medizin
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan : Prof. Dr. E. Rügheimer

Referent : Priv.-Doz. Dr. G. Hartwich

Korreferent : Prof. Dr. L. Demling

Tag der mündlichen Prüfung : 12. Juli 1976

INHALT

Seite

<u>1. Einleitung</u>	1
<u>2. Material und Methode</u>	3
2.1 Verwendete Substanzen	3
2.2 Tiere und Gewinnung des Materials	4
2.3 Art der Behandlung	6
2.4 Bestimmungsmethoden	7
2.4.1 Bestimmung der Disaccharidase-Aktivitäten	7
2.4.2 Bestimmung des Proteingehalts der Mukosapartikel	8
2.4.3 Eichkurven	9
2.4.4 Berechnung der spezifischen Aktivität	12
2.4.5 Praktische Versuchsdurchführung	14
2.4.6 Herstellung der Lösungen	15
2.5 Histologische Untersuchungen	17
<u>3. Statistische Auswertungsverfahren</u>	18
3.1 Test nach Kruskal-Wallis	18
3.2 Test nach Wilcoxon	19
<u>4. Ergebnisse</u>	21
4.1 Normalwerte	21
4.2 Cytosin-Arabinosid im Stoßversuch	23
4.2.1 Behandlungsart	23
4.2.2 Makroskopische Veränderungen	23
4.2.3 Histologische Veränderungen	23
4.2.4 Verhalten der Disaccharidase-Aktivitäten	23
4.3 Cytosin-Arabinosid im Kurzzeitversuch	35
4.3.1 Behandlungsart	35
4.3.2 Makroskopische Veränderungen	35
4.3.3 Histologische Veränderungen	35
4.3.4 Verhalten der Disaccharidase-Aktivitäten	36

	Seite
4.4 Cytosin-Arabinosid bei Langzeitbehandlung	46
4.4.1 Behandlungsart	46
4.4.2 Makroskopische Veränderungen	46
4.4.3 Histologische Veränderungen	46
4.4.4 Verhalten der Disaccharidase-Aktivitäten	46
<u>5. Diskussion</u>	57
5.1 Zellerneuerung im Magen-Darm-Kanal	57
5.2 Faktoren, die die Zellerneuerung beeinflussen	60
5.3 Zellerneuerung unter pathologischen Bedingungen	61
5.4 Funktionelle Störungen nach Anwendung von Zytostatika	63
5.5 Veränderungen der Disaccharidasen	65
5.6 Veränderungen der Disaccharidasen unter Behandlung mit Cytosin-Arabinosid	67
<u>6. Zusammenfassung</u>	77
<u>7. Literatur</u>	79

1. Einleitung

Die zytostatische Krebstherapie beim Menschen ist in vieler Hinsicht noch unbefriedigend. Sie heilt die Krankheit nicht und hat eine Reihe von unerwünschten Nebenwirkungen, die für den Gesamtorganismus schwer sein können. Es besteht auch die Vermutung, daß die Therapie selbst kanzerogen wirkt, sei es über Immunsuppression oder auf direktem Wege .

Von den normalen Geweben werden vor allem jene mit einer hohen Wachstumsrate von der toxischen Wirkung betroffen sein wie Keimzentren der lymphatischen Gewebe, Knochenmark, Anhangsgebilde der Haut, Gonaden und Epithelien des Magen-Darm-Traktes. In dieser Untersuchung soll die unspezifische Wirkung von Cytosin-Arabinosid auf die normalen Zellen des Magen-Darm-Kanals biochemisch und histologisch untersucht werden. Klinische Nebenwirkungen wie Nausea, Erbrechen, Diarrhoen, Anorexie und Kachexie veranlassen, neben schon durchgeführten morphologischen und histologischen Untersuchungen (25,26,27,28,29,47,71,94,93,92,70, 30,75) auch biochemisch einen näheren Aufschluß über die Schädigungen an Magen und Darm zu erhalten.

Die Disaccharidasen der Darmschleimhaut spalten die Doppelzucker aus der Nahrung, die anschließend als Monomere von der Mukosa resorbiert werden. Die Enzyme finden sich im Bürstensaum der Dünndarmepithelien, wahrscheinlich in der Glycocalyx (62). Es liegt nahe, daß bei einem Eingriff in den Regenerations- oder Differentiationsvorgang des Epithels pathologische Veränderungen und klinische Symptome auftreten. In diesem Zusammenhang ist auch bedeutend, daß nicht aufgespaltene Disaccharidasen zu Diarrhoen führen (62).

Unter diesen Aspekten wurde in dieser Arbeit das Verhalten der Enzymaktivitäten von Disaccharidasen unter Cytosin-Arabinosid-Behandlung untersucht.

Cytosin-Arabinosid (Alexan^R) wirkt als Antimetabolit vornehmlich in der DNS-Synthesephase. Es ist ein bewährtes Mittel zur zytostatischen Therapie und findet in der Klinik in zunehmendem Maße Eingang bei der Behandlung vor allem von Leukämien, Lymphogranulomatosen und Lymphosarkomen. Außerdem wurden Erfolge bei der Behandlung von Virusinfektionen mit vitaler Indikation erzielt (3,31,43,48,72).

Die folgenden Untersuchungen mit Cytosin-Arabinosid wurden an Ratten durchgeführt.

Es wurden drei verschiedene Therapieschemata angewandt :

1. Stoßversuch
2. Langzeitversuch
3. Kurzzeitversuch.

Die durchschnittliche Versuchsdauer betrug 240 Stunden, wobei alle 24 bzw. 12 Stunden die spezifischen Aktivitäten der Disaccharidasen aus Dünndarmabschnitten von je 6 Ratten gemessen wurden.

Chemie: 4-Amino-1 (β-D-arabinofuranosyl)-1H-pyrimidin-2-on

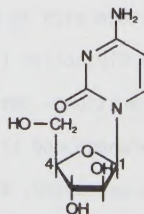


Abb. -1- : Strukturformel von Cytosin-Arabinosid

Chemie: 4-Amino-1(β -D-arabinofuranosyl)-1H-pyrimidin-2-on.

Cytosin-Arabinosid unterscheidet sich chemisch von Cytidin durch die stereoisomere Vertauschung von Wasserstoff- und Hydroxylgruppe am C-Atom 2 im Pentose-Anteil

Synonyma von Cytosin-Arabinosid: Cytarabin, Ara-C, C-Ara

2. Material und Methode

2.1 Verwendete Substanzen

Glucose-Oxydase (GOD)		C.F.Boehringer, Mannheim
Peroxydase (POD)		C.F.Boehringer, Mannheim
Humanalbumin reinst		Behringwerke, Marburg/L.
o-Dianisidin	p.A.	Fluka AG, Buchs/Schweiz
-D-Lactose	p.A.	Serva, Heidelberg
-D-Trehalose	p.A.	" "
-D-Glucose	p.A.	" "
Saccharose	p.A.	" "
Maltose	p.A.	E.Merck, Darmstadt
TRIS (Hydroxymethylamino- methan)		C.F.Boehringer, Mannheim
Maleinsäure	p.A.	Fluka AG, Buchs/Schweiz
Folin-Ciocalteu-Reagens		E.Merck, Darmstadt
Kupfer (II)-Sulfat-5-hydrat	p.A.	" "
Kaliumnatriumtartrat	p.A.	" "
Natriumcarbonat	p.A.	" "
Alexan ^R (Cytosin -Arabinosid)		H.Mack, Illertissen/Bayern
1 N Natronlauge		
5 N Salzsäure		
Äthanol (95 %)		

2.2 Tiere und Gewinnung des Materials

Für die Untersuchungen wurden männliche SPF-Wistar-Ratten mit einem Körpergewicht von 200 bis 250 g verwendet (Bezugsquelle: Mus-Rattus AG, Spezialversuchstierzuchten, 8011 Brunenthal).

Die Tiere wurden unter gleichen Bedingungen gehalten. Es wurden je 6 Ratten in Sägemehleinstreukästen gehalten und mit Altromin^R-Trockenfutter und Aqua ad lib. ernährt (Bezugsquelle: Fa. Altromin GmbH., Lage/Lippe). Jeweils 6 Ratten wurden zu definierten Zeitpunkten (7 Uhr und 19 Uhr) durch zervikale Dislokation getötet.

Zur Untersuchung wurden das obere Duodenum (2 cm Länge ab Pylorus) und ein Teil des oberen Jejunums (8 - 12 cm hinter dem Pylorus) entnommen und der Länge nach aufgeschlitzt. Nach vorsichtigem Reinigen wurde jeweils die Mukosa mit einem Skalpell abgeschabt.

Die gewonnenen Schleimhautpartikel wurden sofort in einer luftdichten Kammer bei -20°C bis zu ihrer Aufarbeitung eingefroren.

Ein Aktivitätsverlust ist dabei nicht zu befürchten (5,44).

Die Präparate wurden innerhalb von 3 Tagen nach ihrer Gewinnung aufgearbeitet. Die gewonnenen Mukosapartikel wurden in Stichproben auf ihre morphologische Homogenität untersucht. Anteile der Muscularis mucosae und der Submukosa waren darin nicht enthalten (Abb. 2 a) und 2 b).

Für die histologischen Untersuchungen wurden jeweils Teile der einzelnen Darmabschnitte in 10 %iger Formalinlösung fixiert.

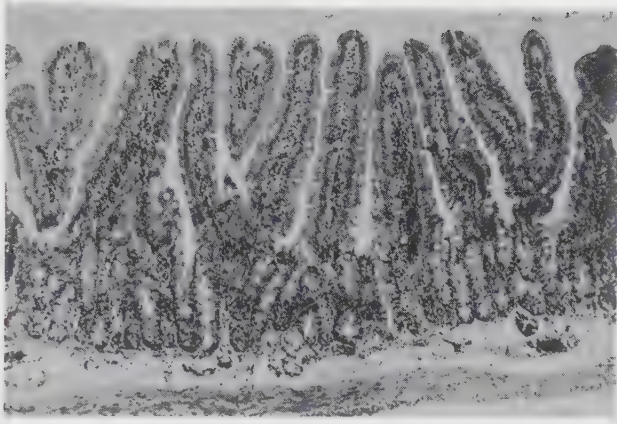


Abb. -2a- : Histologischer Schnitt der Duodenalschleimhaut der Ratte. Nur die Mucosa ($\longleftrightarrow$) wurde abgeschabt.

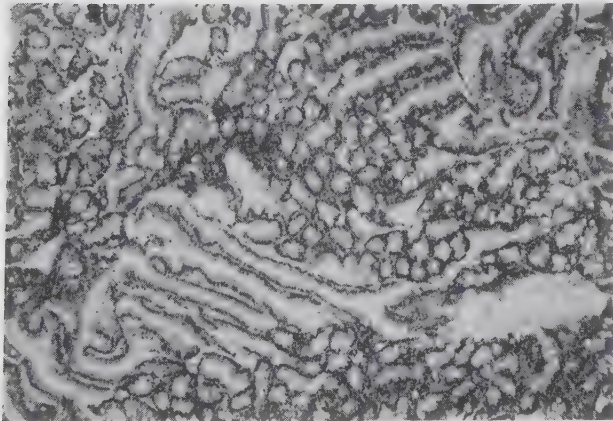


Abb. -2b- : Histologischer Schnitt einer gewonnenen Mukosa-Probe. Anteile der Muscularis mucosae und der Submukosa sind darin nicht enthalten.

2.3 Art der Behandlung

Pro Versuchsreihe wurden 60 Ratten behandelt. Nach Erreichen von steady-state-Bedingungen (10 bis 14 Tage nach dem Transport der Tiere) wurde Cytosin-Arabinosid in drei verschiedenen Dosierungen intraperitoneal appliziert. Das Medikament wurde bei den drei Dosierungen in 1,0 ml physiologischer Kochsalzlösung verabreicht.

Im Stoßversuch bekamen 60 Versuchstiere eine einmalige Dosis von 60 mg/kg Alexan^R (entspricht ca. 12 mg/Ratte) verabreicht. Alle 24 Stunden wurden von dieser Serie 6 Tiere getötet und der Darm zur Weiterverarbeitung entnommen. Die Versuchsdauer betrug 240 Stunden.

Im Langzeitversuch wurde den Tieren alle 12 Stunden eine Dosis von je 6 mg/kg (ca. 1,2 mg/Ratte) verabreicht. Der Versuch lief über 10 Tage. Die höchste Dosis in diesem Versuch betrug somit 120 mg/Ratte. Auch von dieser Serie wurden alle 24 Stunden 6 Tiere getötet und der Darm entnommen.

Im Kurzzeitversuch wurden die Ratten mit 25 mg/kg (entspricht ca 5 mg/Ratte) alle 3 Stunden über einen Zeitraum von 21 Stunden behandelt. Die Gesamtdosis nach 21 Stunden betrug 200 mg/kg, entsprechend 40 mg/Ratte. Die ersten 6 Ratten dieser Versuchsreihe wurden nach 14 Stunden mit einer applizierten Dosis von 125 mg/kg getötet. Die zweite Gruppe von Tieren wurde nach 20 Stunden mit einer Dosis von 175 mg/kg, und die dritte Gruppe nach 24 Stunden mit der maximalen Dosis von 200 mg/kg getötet. Die restlichen Tiere kamen 24,48,72,120,168,216 und 288 Stunden nach der letzten Injektion zur Untersuchung.

2.4 Bestimmungsmethoden

2.4.1 Bestimmung der Disaccharidase-Aktivitäten

Die Enzymaktivitäten der Disaccharidasen wurden in unseren Versuchen mit der Methode nach Dahlqvist (19,21) bestimmt, eine im Vergleich zur Originalmethode modifizierte Zweistufenmethode, die als Mikromethode angewendet werden kann.

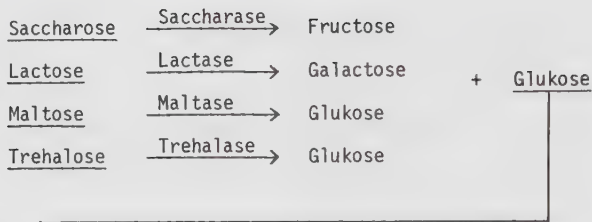
Die Enzyme wurden jeweils nach den eingesetzten Substraten benannt, obwohl die jeweiligen Disaccharidasen nicht streng spezifisch nur ein Substrat umsetzen (64). Die hier benutzte Nomenklatur wird aber allgemein angewandt. Die Disaccharidasen spalten ihren spezifischen Doppelzucker in zwei Monomere, wobei mindestens ein Molekül Glukose frei wird. (Bei Maltose und Trehalose entstehen zwei Moleküle Glukose). Die so freigesetzte Glukosemenge wird nach der GOD-POD-Methode bestimmt.

Der Methode liegt folgendes Prinzip zu Grunde :

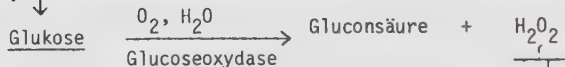
Durch das spezifische Enzym Glucoseoxydase (GOD) wird Glukose zu Gluconolacton oxydiert, das unter Wasseraufnahme in Gluconsäure und Wasserstoffperoxyd übergeht; H_2O_2 seinerseits setzt o-Dianisidin mit Hilfe der Peroxydase in einen rotbraunen Farbstoff um, der photometrisch auf seine Intensität untersucht werden kann.

Die pro Zeiteinheit gebildete Glukosemenge, gemessen an der Zunahme des Farbstoffes bei einer Wellenlänge von 450 nm, ist ein Maß für die Disaccharidase-Aktivitäten. Die einzelnen Schritte der Reaktionsfolge sind:

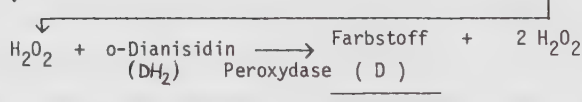
1. Schritt :



2. Schritt :



3. Schritt :



2.4.2 Bestimmung des Proteingehaltes der Mukosapartikel

Die Bestimmung des Gesamtproteins im Schleimhautpartikel erfolgte nach der von Lowry et al. (59) modifizierten Methode von Folin-Ciocalteu (32). Diese Methode eignet sich besonders für kleine Materialmengen.

Prinzip:



Die Reaktion läuft in zwei Schritten ab:

1. Die Biuret-Reaktion der Peptidbildung mit Kupfer in alkalischer Lösung und
2. Die Reduktion der Phosphor-Molybdänsäure und Phosphorwolframsäure durch die im Eiweiß vorkommenden aromatischen Aminosäuren Tyrosin und Tryptophan. Es kommt dabei zu einem blauen Farbumschlag des zuerst gelben Phenolreagenzes. Es wurde bei allen Messungen eine bekannte Standard-eiweißkonzentration zur Kontrolle mitgeführt.

2.4.3 Eichkurven

Um die Genauigkeit der Glukosebestimmung zu prüfen, wurde eine Eichkurve aufgestellt:

Je 0,2 ml von drei Glukosestandardlösungen (A, B, C) wurden mit 3,0 ml Glukosereagenz versetzt und 60 min. bei 37⁰ C zusammen mit dem Leerwert (0,2 ml Aqua bidest. und 3 ml Glukosereagenz) inkubiert. Die Extinktion wurde bei 450 nm gegen den Leerwert gemessen.

GLUKOSEEICHKURVE

Glukosemenge in ug	Extinktionen bei 450 nm	
	1	2
20	0,148	0,150
60	0,390	0,395
100	0,605	0,610

Tabelle 1 : Extinktionswerte von aufsteigenden Glukosekonzentrationen,
gemessen bei 450 nm.

Bei Glukosemengen von über 0,1 mg nehmen die Farbstoffextinktionswerte nicht mehr linear zu. Die Bestimmungsansätze wurden deshalb entsprechend verdünnt.

Bei der Messung der Extinktionen der Glukose wurden stets die drei Glukosestandardlösungen (A, B, C) mit aufsteigender Konzentration mitgeführt.

Die gemessenen Extinktionen lagen stets in dem Bereich der vorher bestimmten Standardglukosen (A, B, C), so daß die Linearität der Konzentration - Extinktion - Relation auch für die durchgeführten Messungen galt (Tab. 1, Abb. -3-).

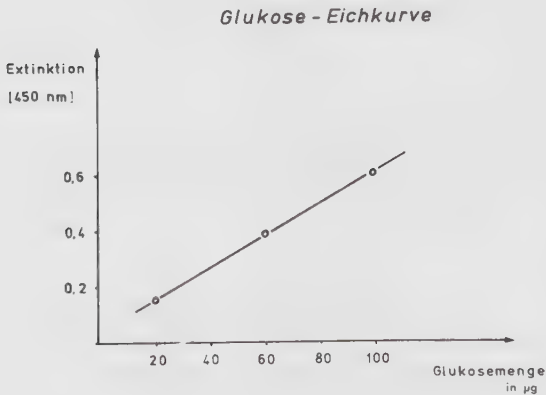


Abb. -3- : Glukose-Eichkurve nach den Werten der Tab. 1.

Die Extinktion der einzelnen Ansätze, die die Enzymaktivität angibt, erhält man nun als Differenz der Extinktionen des Disaccharidansatzes und des Disaccharidleerwertes. Die Mitführung dieses Disaccharidleerwertes war unbedingt notwendig, da beim Auftreten der Disaccharidlösungen spontane Hydrolyse vorkommt.

Auch für die Proteinbestimmung wurde eine Eichkurve erstellt. Es wurden zunehmende Mengen der Eiweißstandardlösung (XII) mit 2 ml Folin-Gebrauchslösung versetzt; nach 10 min. wurden 0,2 ml Phenolreagenz zugegeben.

Die Extinktion wurde nach 30 min. bei 580 nm gegen einen Reagentienleerwert (2 ml Folin-Gebrauchslösung XIII; 0,1 ml Aqua bidest.; 0,2 ml Phenolreagenz VIII) gemessen.

Für die Proteinreihe galt ebenfalls die Linearität der Extinktion mit aufsteigender Konzentration.

PROTEINEICHKURVE

Proteinmenge in mg	Extinktionen bei 580 nm	
	1	2
0,05	0,060	0,060
0,1	0,121	0,120
0,15	0,180	0,181
0,2	0,232	0,235
0,25	0,292	0,290

Tabelle 2 : Extinktionen steigender Mengen einer Eiweißstandardlösung (Doppelbestimmungen) gemessen bei 580 nm

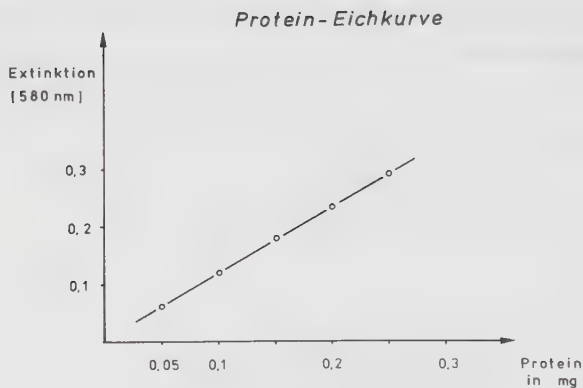


Abb. -4- : Proteineichkurve nach den Meßergebnissen der Tabelle 2

Bei der Proteinbestimmung wurden in allen Versuchen vier Standardansätze mitgeführt.

2.4.4 Berechnung der spezifischen Aktivität

Es wurde zunächst die Proteinkonzentration des Mukosahomogenats nach folgender Formel berechnet :

$$c_A = \frac{E_A}{E_S} \cdot c_S$$

C_A = Proteinkonzentration im Mukosahomogenat

C_S = Proteinkonzentration im Standard eiweiß

E_A = Extinktion des Mukosaansatzes

E_S = Extinktion des Standardansatzes

Wegen der Verdünnung des Homogenats mit 1,5 ml Aqua dest. wird die berechnete Proteinkonzentration mit dem Faktor 1,5 multipliziert.

Man erhält so den Proteingehalt des Homogenats in mg Eiweiß / ml Ansatz.

Die Volumenaktivität berechnet sich aus der Konzentration des Glukosestandards, der Extinktion des Glukosestandards und des Homogenatansatzes.

In die Gleichung geht mit ein das Molekulargewicht der Glukose, die Reaktionszeit, das Analysenvolumen und die Anzahl der aus dem Disaccharid freigesetzten Glukosemoleküle :

$$\text{Volumenaktivität} = C_{\text{Stand}} \cdot \frac{E_{\text{Probe}} \cdot 1000}{E_{\text{Stand}} \cdot \text{MG}_{\text{Glukose}} \cdot \text{min} \cdot A_{\text{Vol}} \cdot n}$$

C_{Stand} = Konzentration des Glukose-Standards = 0,06 mg/ml

E_{Probe} = Extinktion des Ansatzes

E_{Stand} = Extinktion des Glukose-B-Standards

MG = Molekulargewicht der Glukose = 180

min = Reaktionszeit des Enzym-Substrat-Gemisches = 60 min

A_{Vol} = Analysenvolumen = 0,1 ml

n = Zahl der aus dem Disaccharid freigesetzten Glukosemoleküle

= 1 für Saccharose und Lactose

= 2 für Maltose und Trehalose

Zusätzlich muß noch mit 1,5 multipliziert werden, da die Homogenisation des Mukosapartikels in 1,5 ml Aqua bidest. vorgenommen wurde.

Bezieht man die Volumenaktivität auf den Proteingehalt des Mukosahomogenats, so erhält man die spezifische Aktivität der Disaccharidasen :

$$\text{Spez. Aktivität} = \frac{\text{Vol A}}{C_A} \left[\frac{U}{g} \right]$$

$$\text{Vol A} = \text{Volumenaktivität} \left[\frac{U}{ml} \right]$$

2.4.5 Praktische Versuchsdurchführung

Die bei -20°C gefrorenen Schleimhautpartikel wurden in 1,5 ml Aqua bidest. im Glashomogenisator nach Potter-Elvehjem bei 200 bis 300 Upm ca. 30 Sekunden homogenisiert. Das Gefäß wurde dabei ständig mit Eis gekühlt, um einen Aktivitätsverlust durch Wärmeentwicklung zu vermeiden. Für die photometrischen Messungen mußte das Homogenat entsprechend verdünnt werden. Es erwies sich für den Saccharaseansatz eine Verdünnung von 1 : 20, für den Maltaseansatz und Trehalaseansatz eine Verdünnung von 1 : 100 und für den Lactaseansatz eine Verdünnung von 1 : 10 als zweckmäßig. In je zwei Reagenzgläser wurde von den verdünnten Ansätzen 0,1 ml pipettiert; dazu wurden 0,1 ml vom entsprechenden Doppelzucker gegeben, den das zu messende Enzym umsetzt. Dann erfolgte eine Inkubation des Gemisches bei 37°C für 60 Minuten. In dieser Zeit setzt das Enzym eine bestimmte Menge des applizierten Dimers zu Glukose um. Danach wurde die Reaktion durch Zugabe von 3 ml Glukose-Reagenz gestoppt; gleichzeitig setzen die im Glukose-Reagenz enthaltenen Enzyme Glukoseoxydase und Peroxydase die entstandene Glukose in Gluconsäure und Wasserstoffperoxyd um.

H_2O_2 seinerseits oxydiert o-Dianisidin zu einem braunen Farbstoff. Diese Reaktion lief bei einer zweiten Inkubation von 60 min. bei $37^{\circ}C$ ab. Gleichzeitig wurden die Standarddoppelzucker mit Glukose-reagenz versetzt, um den Fehler durch spontane Hydrolyse der Doppelzucker mitmessen zu können. Ebenso wurden vor der zweiten Inkubation noch die Glukoseeichzucker und ein Leerwert pipettiert. Nach Ablauf der zweiten Inkubation wurde photometriert.

Parallel zu dieser Bestimmung wurde die Messung der Proteinkonzentration durchgeführt. Dabei wurde in einer Doppelbestimmung in 2 ml Folin-Gebrauchslösung (XIII) 1 ml Homogenatverdünnung (1 : 10) einpipettiert, gut durchgeschüttelt und nach 10 min. 0,2 ml Phenolreagenz nach Folin-Ciocalteu (VIII) dazugegeben. Nach 30 min. wurde photometrisch die Extinktion des blauen Farbstoffs gemessen. Bei dieser Bestimmung wurden parallel vier Standardproteinkonzentrationen und ein Leerwert mitgeführt.

2.4.6 Herstellung der Lösungen

I. Maleatpuffer (0,1 M; pH = 6,0)

11,6 g Maleinsäure in 153 ml 1 N Natronlauge lösen,
mit Aqua bidest. auf 1000 ml verdünnen; wenn nötig pH auf
6,0 korrigieren.

II. Disaccharidlösung

2g Maltosemonohydrat in Maleatpuffer ad 100 ml lösen
(bzw. 1,9 g Saccharose; 2 g Lactosemonohydrat;
1,9 g Trehalose)

III. Tris - Puffer (0,5 M; pH = 7,0)

61 g Tris in 85 ml 5 N HCl lösen und mit Aqua bidest.

ad. 1000 ml verdünnen; wenn nötig, pH auf 7,0 nachstellen.

IV. Peroxydase (1 mg/ml)

100 mg Peroxydase in 100 ml Aqua bidest. lösen.

V. o-Dianisidin

1 g o-Dianisidin in 100 ml Äthanol lösen.

VI. Glukosereagenz

4 mg Glukose-Oxydase in 200 ml Tris-Puffer lösen;

dazu 2 ml o-Dianisidin und 1 ml Peroxydase. Das Glukose-Reagenz wurde für jede Bestimmung in der angegebenen Weise neu angesetzt.

VII. Glukose-Standard-Lösungen

500 mg wasserfreie Glukose mit Aqua bidest. ad 1000 ml lösen

(Lösung A); 300 ml der Lösung A mit Aqua bidest. ad 500 ml ver-

dünnen (Lösung B); 100 ml dieser Lösung mit Aqua bidest. ad

300 ml verdünnen (Lösung C)

VIII. 1 N Phenol-Reagenz nach Folin-Ciocalteu Handelspräparat mit

0,1 N NaOH titrieren und die Normalität feststellen; das

Handelspräparat mit Aqua bidest. bis zur 1 N Gebrauchslösung verdünnen.

IX. 0,189 M Natrium-Carbonat-Lösung

20 mg Natrium-Carbonat anhydr. mit Aqua bidest. lösen.

X. 0,04 M Kupfer-Sulfat-Lösung

1 g Kupfersulfat ad 100 ml Aqua bidest. lösen.

XI. 0,071 M Kalium-Natrium Tartrat-Lösung

2 g Kalium-Natrium-Tartrat mit Aqua bidest. ad 100 ml lösen.

XII. Eiweiß-Standardlösung (1 mg/ml)

Mit Humanalbumin und physiologischer Kochsalzlösung herstellen.

XIII. Folin-Gebrauchslösung

0,5 ml der Kupfer-Sulfat-Lösung (X) mit 0,5 ml der Kalium-Natrium-Tartrat-Lösung (XI) mischen und mit Natrium-Carbonat-Lösung (IX) ad 50 ml verdünnen.

2.5 Histologische Untersuchungen

Die in 10%-iger Formalinlösung fixierten Darmstücke wurden in ca. 3 mm lange Stückchen geschnitten, 6 Stunden gewässert, im Autoklaven in einer aufsteigenden Alkoholreihe (2x70 %, 3x96 %, 3x100 %) behandelt und anschließend in Aceton gespült. Die Präparate wurden dann in heißes Paraplast eingelegt. Je Ansatz wurden ca. 4 - 6 Darmabschnitte in Paraplast eingebettet. Nach dem Trocknen wurden mit dem Mikrotom 6 µm-dicke Schnitte hergestellt und diese auf Objektträger aufgezogen. Nach einer Verweilzeit von 30 Minuten im Brutschrank bei 60° C wurden die Schnitte 30 Minuten in Xylol entparaffiniert, dann in einer Alkoholreihe absteigender Konzentration (100 %, 96 % und 70 %) und in Aqua dest. je 2 min. gewaschen.

Pro Ansatz wurden vier verschiedene Färbungen angefertigt:

1. Hämatoxylin-Eosin-Färbung
2. PAS-Färbung
3. May-Grünwald-Giemsa-Färbung
4. Färbung nach Feulgen.

Zum Schutz der Präparate wurden Deckgläser aufgeklebt.

Die mikroskopische Auswertung erfolgte bei mittlerer und starker Vergrößerung.

3. Statistik

3.1 Test nach Kruskal-Wallis

Durch diesen Test kann der globale statistische Zusammenhang einer Ratten-
serie untersucht werden. Ausgehend von der von Kruskal und Wallis
errechneten Testgröße H, kann eine Grundgesamtheit auf ihre Homogenität
bzw. Dishomogenität geprüft werden (50). Die Nullhypothese lautet :
Das Gesamtkollektiv einer Rattenreihe entstammt der gleichen Grund-
gesamtheit. Der Test selbst ist konsistent für die Gegenhypothese,
die besagt, daß die Einzelgruppen von Ratten nicht derselben Grund-
gesamtheit entstammen. In der folgenden Tabelle (Tab. 3) werden die
kritischen Überschreitungswahrscheinlichkeiten für die oben angegebenen
Irrtumswahrscheinlichkeiten (p) angegeben. Die Anzahl der Freiheits-
grade betrug jeweils 10.

FG \ p	0,99	0,975	0,95	0,90	0,80	0,70	0,50	0,30	0,20
10	2,56	3,25	3,94	4,87	6,18	7,27	9,34	11,8	13,4

FG \ p	0,10	0,05	0,025	0,01	0,001
10	15,99	18,31	20,48	23,21	29,59

FG = Freiheitsgrad

p = Wahrscheinlichkeit

Tab. 3 : Signifikanzschranken für Kruskal-Wallis-Testgröße H (88).

Die Testgröße ist approximativ χ^2 -verteilt. Sie ist angegeben für
den zweiseitigen Test.

3.2 Test nach Wilcoxon

Zur statistischen Prüfung zweier aufeinanderfolgender Stichproben von je sechs Ratten innerhalb zweier Gruppen wurde der Wilcoxon-Test zur Prüfung auf Signifikanz herangezogen. Dieser Test geht wie der Kruskal-Wallis-Test von der Nullhypothese aus, daß die beiden getesteten Stichproben der gleichen Grundgesamtheit entstammen. Zur statistischen Prüfung werden die Wilcoxon-Testgröße T, die nach Mann-Whitney errechenbare Testgröße U und die Testgröße R, die approximativ standardnormal verteilt ist, berechnet. In der folgenden Tabelle sind die Überschreitungs-wahrscheinlichkeiten für den Wilcoxon-Test angegeben (Tab. 4).

Anzahl der Freiheitsgrade n_1/n_2	Irrtumswahr- scheinlichkeit p	Prüf- größe	Wert
6/6	0,05	T	13,0
6/6	0,01	T	16,0
6/6	0,05	U	5,0
6/6	0,01	U	2,0
6/6	0,05	R	1,96
6/6	0,01	R	2,58
60/6	0,05	U	92,63
60/6	0,01	U	64,52

Tab. 4 : Testgrößen T, U, R (13,74,88).

In der folgenden Untersuchung finden sich unter den prozentualen Darstellungen der Disaccharidase-Aktivitäten die Testgrößen in Tabellen geordnet. Dabei wird Signifikanz auf dem 5%-Niveau mit $\left[\begin{smallmatrix} 1 \end{smallmatrix} \right]$, auf dem 1%-Niveau mit $\left[\begin{smallmatrix} 2 \end{smallmatrix} \right]$, markiert. Die Testgrößen wurden mit dem Rechner CD 3300 des Rechenzentrums Erlangen, unter Verwendung fester Hilfsprogramme (STATSYS), ausgehend von den mit eigenen Programmen errechneten spezifischen Aktivitäten berechnet.

4. Ergebnisse

4.1 Normalwerte

Da die spezifischen Aktivitäten der Disaccharidasen in unbehandelten Tieren (Null-Werte) eine relativ große Variabilität aufweisen, wurden zur Gewinnung eines angenähert genauen Mittelwertes 60 Ratten untersucht. Davon waren 30 unbehandelt, die restlichen 30 Ratten erhielten alle 24 Stunden 1 ml 0,9 % NaCl-Lösung intraperitoneal verabreicht. Zwischen den unbehandelten und den "Placebo"-Ratten ergab sich bei Messung der spezifischen Aktivitäten kein Unterschied. Aus den Enzymaktivitäten der Gesamtheit wurde für jedes Enzym der arithmetische Mittelwert errechnet, dazu Standardabweichung und Signifikanz (Tab. 5).

DUODENUM	Mittelwert	s	$\sigma = \frac{s}{\sqrt{n}}$
Enzym			
Saccharase	37.52	19.17	11.06
Lactase	1.05	0.87	0.50
Maltase	231.32	75.13	43.35
Trehalase	114.03	40.35	23.28
JEJUNUM			
Saccharase			
Lactase			
Maltase			
Trehalase			
	107.83	34.57	19.95
	8.09	4.27	2.46
	374.01	103.08	59.48
	125.51	33.98	19.16

Tab. 5 : Nullwerte der Disaccharidasen in U/g in Duodenum und Jejunum.

Es wurde ein Vergleich der Normalwerte von Ratten, die um 7 Uhr, 19 Uhr und 22 Uhr getötet wurden durchgeführt, wobei sich keine eindeutigen Unterschiede der Aktivitäten fanden. Ein Tag-Nachtrhythmus konnte somit nicht objektiviert werden (45).

4.2 Cytosin-Arabinosid im Stoßversuch

4.2.1 Behandlungsart

Es wurde eine Stoßbehandlung mit einer einmaligen Dosis von 60 mg/kg Cytosin-Arabinosid durchgeführt. Die Disaccharidase-Aktivitäten wurden alle 24 Stunden gemessen. Die Versuchsdauer betrug 240 Stunden. Alle Tiere überlebten die Behandlung.

4.2.2 Makroskopische Veränderungen

Nach 96 Stunden zeigten die Tiere im Stoßversuch eine verminderte Vitalität. Das Fell war struppig und wies gelbliche Verfärbungen auf. Nach 120 Stunden waren die Tiere sehr unruhig und aggressiv. Der Darm wirkte nach 144 Stunden stark hämorrhagisch inhibiert und entzündlich verändert. Noch später, nach 168 Stunden, ließ sich die Schleimhaut im Duodenum leichter abschaben, die Jejunumschleimhaut war sehr dünn. Das Fell der Tiere war zu diesem Zeitpunkt wieder weich wie normal und ihr Befinden sehr gut.

4.2.3 Histologische Veränderungen

Histologische Veränderungen bei Behandlung mit 60 mg/kg Cytosin-Arabinosid zeigten sich nur ganz vereinzelt. In beiden Darmabschnitten (Duodenum und Jejunum) stieg lediglich die Anzahl der Mitosen bei 48 und 72 Stunden. Nach Abklingen der Wirkung des Zytostatikums kam es zur restitutio ad integrum.

4.2.4 Verhalten der Disaccharidase-Aktivitäten

Nach der Einzeldosis von 1 x 60 mg/kg Cytosin-Arabinosid zeigte sich sowohl im Duodenum als auch im Jejunum ein signifikanter Abfall ($p < 0,05$) der Saccharase-Aktivitäten innerhalb der ersten 24 Stunden.

Im Duodenum erfolgte anschließend ein signifikanter Anstieg bis 48 Stunden. Die weiteren Werte bis 240 Stunden lagen um den Normalwert (Abb. 5, Tab. 6).

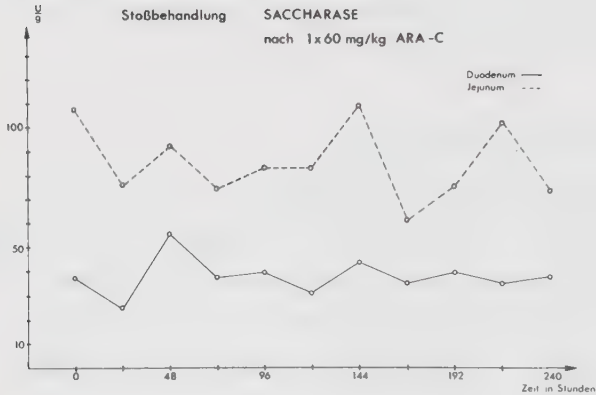


Abb. -5- : Saccharase-Aktivitäten (arithmetische Mittelwerte aus jeweils 6 Einzelwerten) der Ratte nach 1 x 60 mg/kg Ara-C in Duodenum und Jejunum.

Anders verhalten sich die Saccharase-Aktivitäten im Jejunum. Hier folgte nach 144 Stunden ein weiterer signifikanter Abfall, nach 192 Stunden ein signifikanter Anstieg und wiederum ein signifikanter Abfall bis 240 Stunden. Über die gesamte Versuchsdauer kehrten die Werte nicht zum Normalwert zurück. Diese Spätwirkung im Jejunum zeigte sich auch bei den anderen gemessenen Enzymen (Lactase, Maltase, Trehalase) (Abb. 7,9,11, Tab. 7).

Die Lactase-Aktivitäten zeigten im Duodenum einen kontinuierlichen Abfall innerhalb von 72 Stunden bis auf den Wert Null. Bis zum Versuchsende nach 240 Stunden erreichten die Aktivitäten wieder ihren Ausgangswert. Der globale statistische Zusammenhang (Kruskal-Wallis-Test) ist hoch signifikant. Dies beweist, daß die Gesamtveränderung der Aktivitäten über 240 Stunden signifikant war (Abb. 6, Tab. 6).

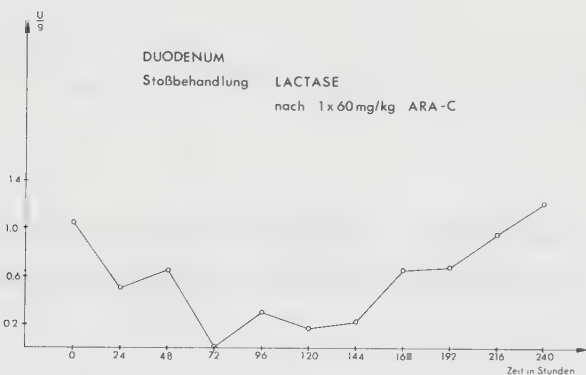


Abb. -6- : Lactase-Aktivitäten (arithmetische Mittelwerte aus 6 Einzelwerten) der Ratte nach 1 x 60 mg/kg Ara-C im Duodenum.

Im Jejunum fand sich in den ersten 72 Stunden zweimal ein signifikanter Abfall der Lactase-Aktivität mit einem Zwischenanstieg. Es folgte ein Intervall bis 144 Stunden, in dem sich das Enzym erholte. Nach 144 und 216 Stunden fielen die Aktivitäten erneut signifikant unter den Normalwert ab (Abb. 7, Tab. 7).

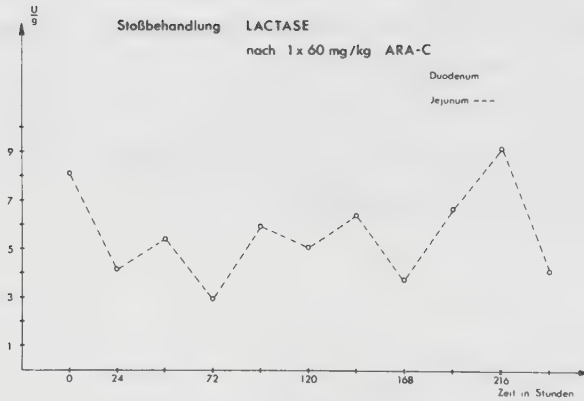


Abb. -7- : Lactase-Aktivitäten (arithmetische Mittelwerte aus jeweils 6 Einzelwerten) der Ratte nach 1 x 60 mg/kg Ara-C im Jejunum.

Die Maltase-Aktivitäten im Duodenum zeigten einen initialen signifikanten Abfall bis 24 Stunden, danach bis 48 Stunden einen signifikanten Anstieg. Anschließend normalisierten sich die Aktivitäten (Abb. 8, Tab. 6).

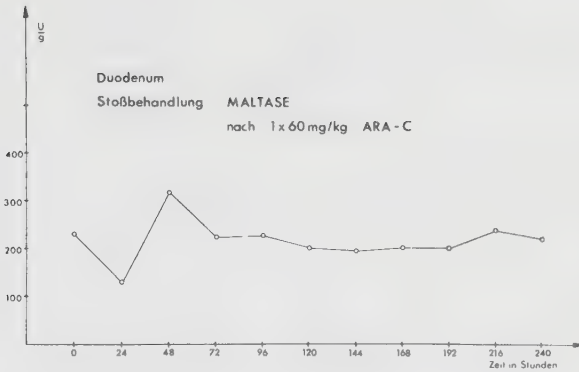


Abb. -8- : Maltase-Aktivitäten (arithmetische Mittelwerte aus jeweils 6 Einzelwerten) der Ratte nach 1 x 60 mg/kg Ara-C im Duodenum.

Im Unterschied zu allen anderen Enzymen zeigte die Maltase im Jejunum in der Frühphase nach der Applikation keine wesentlichen Aktivitätsveränderungen. Erst nach 120 Stunden kam es zu einer Spätwirkung mit deutlichen Aktivitätsschwankungen. Ein signifikanter Anstieg erfolgte nach 120 Stunden und 192 Stunden, ein signifikanter Abfall nach 144 und 216 Stunden (Abb. 9, Tab. 7).

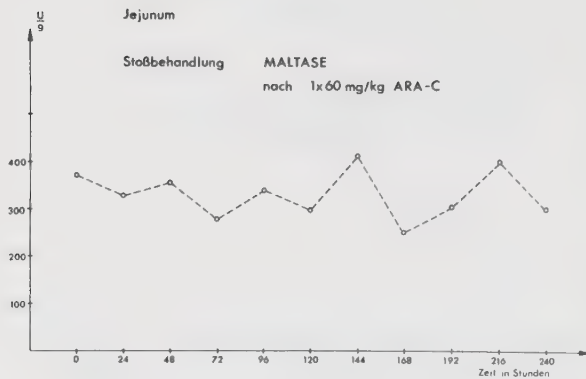


Abb. 9- : Maltase-Aktivitäten (arithmetische Mittelwerte aus jeweils 6 Einzelwerten) der Ratte nach 1 x 60 mg/kg Ara-C im Jejunum.

Auch die Trehalase zeigte einen für das Duodenum typischen signifikanten Abfall der Aktivitäten zu Beginn der Stoßbehandlung. Es folgte im Intervall zwischen 24 und 48 Stunden ein signifikanter Anstieg bis zum Normalwert. Danach lagen die Werte über 10 Tage niedriger als der Normalwert und erreichten diesen, trotz terminalen Anstieges nicht wieder (Abb. 10, Tab.6).

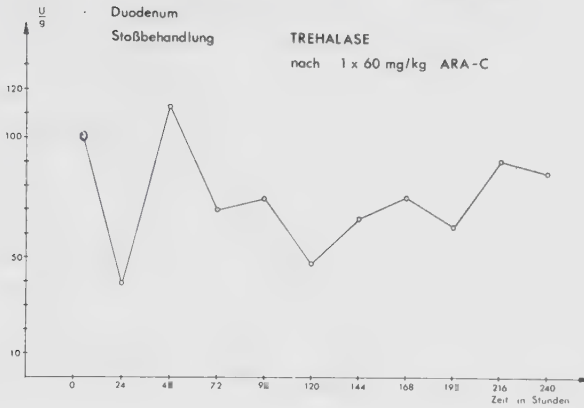


Abb. - 10 - : Trehalase-Aktivitäten (arithmetische Mittelwerte aus jeweils 6 Einzelwerten) der Ratte nach 1 x 60 mg/kg Ara-C im Duodenum.

Die Trehalase-Aktivitäten im Jejunum sanken während der ersten 24 Stunden signifikant unter den Normalwert ab. Die Werte lagen bis 120 Stunden in diesem unteren Bereich. Zwischen der 120.ten und 240.ten Stunden zeigten sich zwei Aktivitätsgipfel mit signifikantem Anstieg und Abfall bei 144 und 216 Stunden.

Insgesamt lagen diese späten Werte niedriger als der Ausgangswert (Abb. 11, Tab. 7).

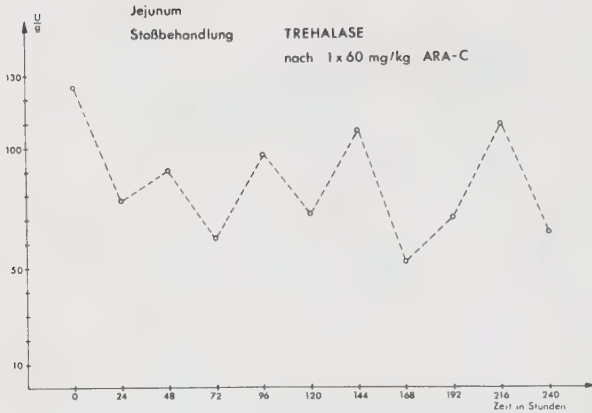


Abb. - 11 - : Trehalase-Aktivitäten (arithmetische Mittelwerte aus jeweils 6 Einzelwerten) der Ratte nach 1 x 60 mg/kg Ara-C im Jejunum.

Bei der prozentualen Darstellung der Aktivitäten kam deutlich das gleichsinnige Verhalten von Saccharase, Maltase und Trehalase im Duodenum zum Ausdruck. Nach der applizierten Einzeldosis von 60 mg/kg zeigte sich innerhalb der ersten 24 Stunden ein signifikanter Abfall der Aktivitäten weit unter den Normalwert. Zwischen der 24.ten und 48.ten Stunde stiegen die Werte signifikant an. Während die Trehalase bis zur 48.ten Stunde nur zum Normalwert zurückkehrte, kam es bei der Saccharase und der Maltase zu einer überschießenden Erholung mit Werten bis zu ca. 150 % der Ausgangswerte. Die Saccharase und Maltase-Aktivitäten waren nach der 72.ten Stunde wieder zu ihren Ausgangswerten zurückgekehrt und pendelten bis Versuchsende um diesen Wert.

Die Trehalase fiel von der 48.ten bis zur 120.ten Stunde weiter ab bis auf 40 % des Ausgangswertes und kehrte dann langsam in die Nähe ihres Normalwertes zurück.

Die Lactase-Aktivitäten fielen bis zur 24.ten Stunde ebenfalls stark ab (etwa 50 % der Ausgangswerte), zeigten jedoch im Gegensatz zu den übrigen Enzymen keinen raschen Wiederanstieg, sondern sanken weiter ab bis auf einen nicht mehr nachweisbaren Wert bei 72 Stunden.

Danach begann die Erholungsphase mit einem langsam kontinuierlichen Anstieg bis gering über das Niveau des Normalwertes bei 240 Stunden (Abb. 12, Tab. 6).

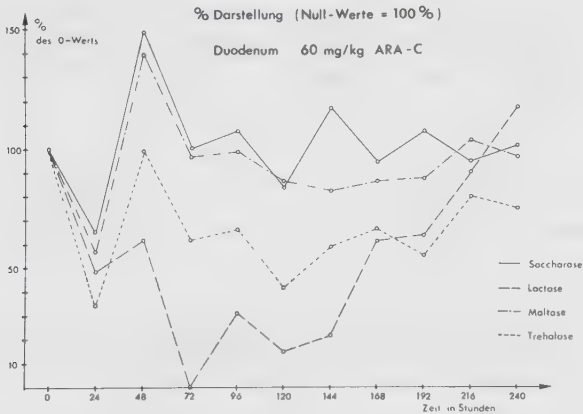


Abb. - 12 - : Prozentuale Darstellung der Disaccharidase-Aktivitäten nach 1 x 60 mg/kg Ara-C im Duodenum.

Wilcoxon-Test, Kruskal-Wallis-Test

Duodenum 60 mg/kg Ara-C

	24	48	72	96	120	144	168	192	216	240	
T	89.0 ¹	-16.0 ²	12.0	-3.0	8.0	-6.0	1.0	-6.0	6.0	-2.0	SAC
U	91.0 ¹	2.0 ²	6.0	15.0	10.0	12.0	17.0	12.0	12.0	16.0	
R	1.98 ¹	-2.56 ¹	1.92	-0.48	1.28	-0.96	0.16	-0.96	0.96	-0.32	
B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
K.W. H = 14.38, χ^2 -verteilt mit 10 FG											
T	67.0	8.0	6.0	-9.0	4.5	-4.5	-6.0	-1.0	-7.0	-5.0	LAC
U	113.0	10.0	12.0	9.0	13.5	13.5	12.0	17.0	11.0	13.0	
R	1.49	1.28	0.96	-1.44	0.86	-0.86	-0.99	-0.16	-1.12	-0.80	
B	5	1	1	1	1	1	1	1	2	0	
K.W. H = 35.39 ² , χ^2 -verteilt mit 10 FG											
T	113.0 ²	-18.0 ²	12.0	-3.0	4.0	0.0	-4.0	-2.0	-8.0	4.0	MAL
U	49.0 ²	0.0 ²	6.0	15.0	14.0	18.0	14.0	16.0	10.0	14.0	
R	2.92 ²	-2.88 ²	1.92	-0.48	0.64	0.00	-0.64	-0.32	-1.28	0.64	
B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
K.W. H = 21.11 ¹ , χ^2 -verteilt mit 10 FG											
T	164.0 ²	-16.0 ²	11.0	-4.0	8.0	-7.0	-4.0	3.0	-12.0	2.0	TRE
U	16.0 ²	2.0 ²	7.0	14.0	10.0	11.0	14.0	15.0	6.0	16.0	
R	3.65	-2.56 ¹	1.76	-0.64	1.28	-1.12	-0.64	0.48	-1.92	0.32	
B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
K.W. H = 47.18 ² , χ^2 -verteilt mit 10 FG											

¹ = signifikant ($p < 0,05$)

² = signifikant ($p < 0,01$)

Tab. 6 : Statistische Testgrößen für das Duodenum zu den Abb. 5, 6, 8, 10, 12.

Im Unterschied zum Duodenum zeigten alle untersuchten Enzyme im Jejunum über die gesamte Versuchsdauer ein einheitliches Aktivitätsmuster. Nach der injizierten Dosis kam es während der ersten 24 Stunden bei allen Enzymen zu einem signifikanten Aktivitätsabfall.

Im folgenden Intervall] bis 120 Stunden blieben die Aktivitätswerte in einem Bereich unterhalb des Normalwertes. Erst in einer späten Reaktion zeigten sich bei 144 und 216 Stunden zwei signifikante Gipfel aller Enzyme. Danach erreichten die Saccharase, die Maltase und die Lactase Aktivitäten, die höher lagen als ihre Ausgangswerte, während die Trehalase nur ca. 90 % ihres Normalwertes erreichte.

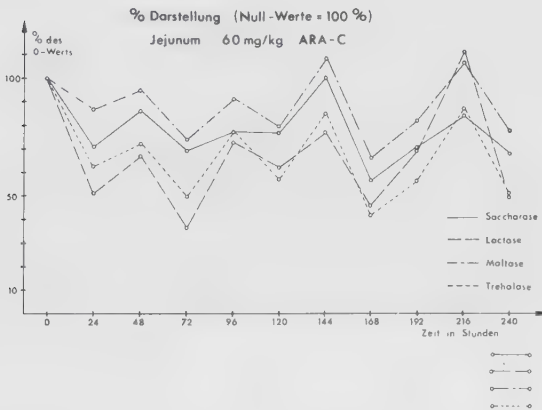


Abb. - 13 - : Prozentuale Darstellung der Disaccharidase-Aktivitäten nach 1 x 60 mg/kg Ara-C im Jejunum.

Wilcoxon-Test, Kruskal-Wallis-Test

Jejunum 60 mg/kg Ara-C

	24	48	72	96	120	144	168	192	216	240	
T	103.0 ¹	-8.0	8.0	-4.0	2.0	-10.0	18.0 ²	-11.0	-18.0 ²	15.0 ¹	SAC
U	77.0 ¹	10.0	10.0	14.0	16.0	8.0	0.0 ²	7.0	0.0 ²	3.0 ¹	
R	2.30 ¹	-1.28	1.28	-0.64	0.32	-1.60	2.88 ²	-1.76	-2.88 ²	2.40 ¹	
B	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
K.W. H= 34.40 ² , χ^2 - verteilt mit 10 FG, 2 Bindungen											
T	97.0 ¹	-8.0	16.0 ²	-8.0	3.0	-2.0	16.0 ²	-7.0	-10.0	13.0 ¹	LAC
U	83.0 ¹	10.0	2.0 ²	10.0	15.0	16.0	2.0 ²	11.0	8.0	5.0 ¹	
R	2.16 ¹	-1.28	2.56 ¹	-1.28	0.48	-0.32	2.56 ¹	-1.12	-1.60	2.08 ¹	
B	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
K.W. H= 27.79 ² , χ^2 - verteilt mit 10 FG, 6 Bindungen											
T	52.0	-3.0	10.0	-8.0	5.0	-16.0 ²	18.0 ²	-10.0	-15.0 ¹	15.0 ¹	MAL
U	128.0	15.0	8.0	10.0	13.0	2.0 ²	0.0 ²	8.0	3.0 ¹	3.0 ¹	
R	1.16	-0.48	1.60	-1.28	0.80	-2.56 ¹	2.88 ²	-1.60	-2.40 ¹	2.40 ¹	
B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
K.W. H= 26.65 ² , χ^2 - verteilt mit 10 FG, 6 Bindungen											
T	142.0 ²	-7.0	10.0	-10.5	10.0	-14.0 ¹	18.0 ²	-15.0 ¹	-18.0 ²	18.0 ²	TRE
U	38.0 ²	11.0	8.0	7.5	8.0	4.0 ¹	0.0 ²	3.0 ¹	0.0 ²	0.0 ²	
R	3.17 ²	-1.12	1.60	-1.68	1.60	-2.24 ¹	2.88 ²	-2.40 ¹	-2.88 ²	2.88 ²	
B	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	
K.W. H= 60.29 ² , χ^2 - verteilt mit 10 FG, 3 Bindungen											

¹ = signifikant (p < 0,05)

² = signifikant (p < 0,01)

Tab. 7 : Statistische Testgrößen für das Jejunum zu den

Abb. 5, 7, 9, 11, 13.

4.3 Cytosin-Arabinosid im Kurzzeitversuch

4.3.1 Behandlungsart

Bei dieser Behandlung wurde den Ratten alle 3 Stunden über eine Versuchsdauer von 21 Stunden 25 mg/kg Cytosin-Arabinosid intraperitoneal injiziert. Die Gesamtdosis betrug nach 21 Stunden 200 mg/kg Körpergewicht. Die Disaccharidase-Aktivitäten wurden nach 125 mg/kg, 175 mg/kg und 200 mg/kg gemessen. Nach der erreichten Gesamtdosis von 200 mg/kg wurden die Disaccharidase-Aktivitäten in 24-stündigen Abständen bis 72 Stunden nach der letzten Injektion gemessen und anschließend in 48-stündigen Abständen bis 288 Stunden. Alle Tiere überlebten die Behandlung.

4.3.2 Makroskopische Veränderungen

Nach 12 Stunden trat etwa bei einem Drittel der Versuchstiere Durchfall auf. Nach 168 Stunden und später zeigten ca. 90 % der Ratten eine hämorrhagisch inhibierte Darmschleimhaut. Das Befinden der Tiere war über die gesamte Versuchsdauer nicht auffällig.

4.3.3 Histologische Veränderungen

Bei der Verabreichung von 8 x 25 mg/kg Cytosin-Arabinosid innerhalb von 21 Stunden zeigten sich keine wesentlichen, lichtmikroskopisch faßbaren Veränderungen.

4.3.4 Verhalten der Disaccharidase-Aktivitäten

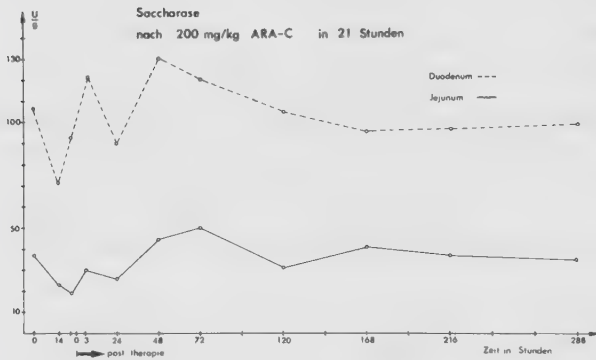


Abb. - 14 - : Saccharase-Aktivitäten (arithmetische Mittelwerte aus jeweils 6 Einzelwerten) der Ratte nach 8x25 mg/kg (= 200 mg/kg) Ara-C innerhalb von 21 Stunden in Duodenum und Jejunum.

Bei einer innerhalb von 21 Stunden verabreichten Dosis von 200 mg/kg Ara-C fielen die Saccharase-Aktivitäten in Duodenum und Jejunum initial signifikant ab. Im Duodenum wurde der tiefste Wert bei 20 Stunden, im Jejunum bei 14 Stunden nach Therapiebeginn erreicht. Anschließend erholten sich die Enzymaktivitäten, wobei sowohl im Duodenum als auch im Jejunum ein signifikanter Anstieg zu verzeichnen war. Im Jejunum begann die Erholungsphase noch während der Behandlung.

In beiden Darmabschnitten kam es zu einer überschießenden Erholung der Enzyme. Bis zum Ende der Versuchsdauer nach 12 Tagen waren die Aktivitätswerte zum Ausgangswert zurückgekehrt (Abb. 14, Tab. 8,9).

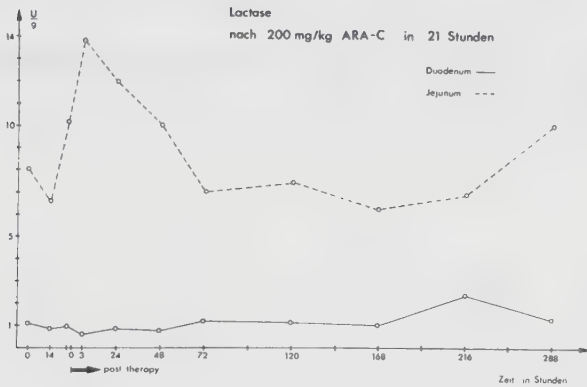


Abb. - 15 - : Lactase-Aktivitäten (arithmetische Mittelwerte aus jeweils 6 Einzelwerten) der Ratte nach 8x25 mg/kg (= 200 mg/kg) Ara-C innerhalb von 21 Stunden in Duodenum und Jejunum.

Die Lactase zeigte im Jejunum einen raschen Aktivitätsabfall und eine frühe überschießende Regeneration (Abb. 15). Die Lactase-Aktivitäten waren im Jejunum 14 Stunden nach Behandlungsbeginn auf ihren tiefsten Wert gesunken und hatten 3 Stunden nach der letzten Dosis wieder einen über der Norm liegenden Wert erreicht.

Nach einem allmählichen Abstieg lagen die Werte bis zur 216.ten Stunde unter dem Normalwert, zeigten jedoch gegen Versuchsende eine ansteigende Tendenz bis über den Normalwert hinaus.

Im Duodenum wurde der tiefste Wert 24 Stunden nach der ersten Injektion erreicht, wobei ein kurzfristiger Zwischenanstieg bei 20 Stunden zu verzeichnen war. Ab der 3.ten Stunde nach der letzten Dosis stiegen die Aktivitäten langsam an und hatten sich bei 72 Stunden über die Norm hinaus erholt.

Bis Versuchsende lagen die Lactase-Aktivitäten über ihrem Ausgangswert (Abb. 15, Tab. 8,9).

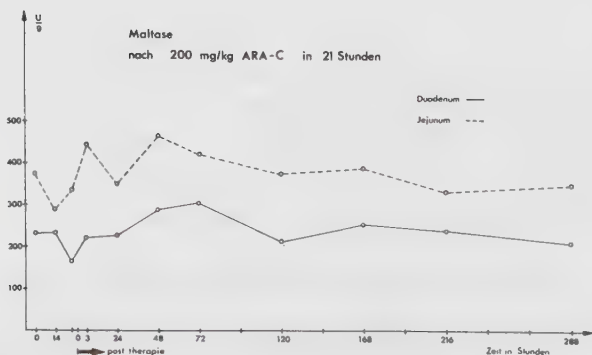


Abb. - 16 - : Maltase-Aktivitäten (arithmetische Mittelwerte aus jeweils 6 Einzelwerten) der Ratte nach 8x25 mg/kg (= 200 mg/kg) Ara-C innerhalb von 21 Stunden in Duodenum und Jejunum.

Auch die Maltase zeigte einen raschen Aktivitätsabfall: Im Jejunum wurde der tiefste Wert bei 14 Stunden, im Duodenum bei 20 Stunden nach Therapiebeginn erreicht. In beiden Darmabschnitten war dieser Abfall signifikant. Der erste Erholungsgipfel im Jejunum zeigte sich bereits bei 3 Stunden post therapie, eine weitere überschießende Regeneration bei 48 Stunden post therapie.

Im Duodenum erfolgte die Regeneration langsamer; der höchste Wert wurde bei 72 Stunden erreicht. In beiden Darmabschnitten kehrten bis zum Ende der Therapie die Aktivitäten zum Normalwert zurück, wobei während dieser Phase der tiefste Wert bei 120 Stunden lag.

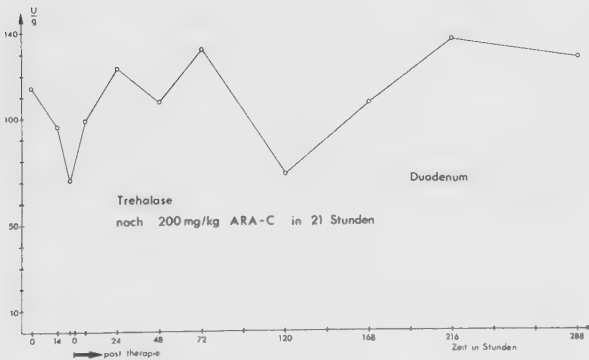


Abb. - 17 - : Trehalase-Aktivitäten (arithmetische Mittelwerte aus jeweils 6 Einzelwerten) der Ratte nach 8x25 mg/kg (= 200 mg/kg) Ara-C innerhalb von 21 Stunden im Duodenum.

Die Trehalase-Aktivität erreichte im Duodenum ihren tiefsten Wert bei 20 Stunden nach Therapiebeginn. Es folgte ein signifikanter Anstieg bis zur 3.ten Stunde nach der letzten Dosis mit weiterhin steigender Tendenz bis zur 72.ten Stunde. Von diesem weit über dem Normalwert gelegenen Wert erfolgte ein Absinken der Trehalase-Aktivität bei 120 Stunden ($p < 0,05$). Bei Versuchsende lagen die Werte erneut über der Norm (Abb. 17, Tab. 8).

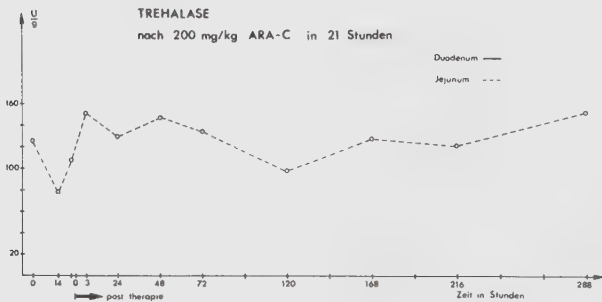


Abb. - 18 - : Trehalase-Aktivitäten (arithmetische Mittelwerte aus jeweils 6 Einzelwerten) der Ratte nach 8x25 mg/kg (= 200 mg/kg) Ara-C innerhalb von 21 Stunden im Jejunum.

Im Jejunum fand sich ein signifikanter Abfall der Trehalase bis zur 14.ten Stunde nach Therapiebeginn auf ihren tiefsten Wert. Drei Stunden nach der letzten Injektion erfolgte eine rasche Regeneration bis weit über die Norm. Im Anschluß daran kam es zu einer geringen Reduktion der Aktivitäten unter den Normalwert bis zur 120.ten Stunde und schließlich bis zum Versuchsende zu einer langsamen Erholung bis über den Normalwert hinaus. Der Anstieg zwischen der 216.ten und 288.ten Stunde war signifikant (Abb. 18, Tab. 9).

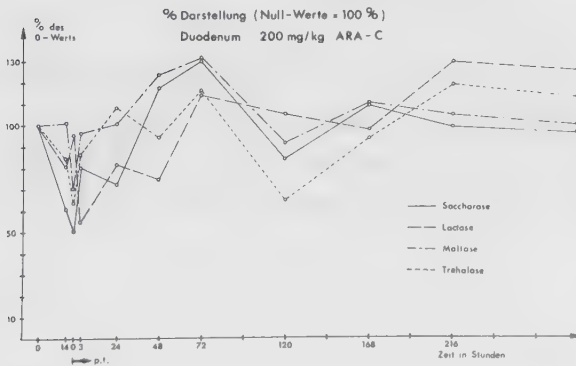


Abb. - 19 - : Prozentuale Darstellung der Disaccharidase-Aktivitäten nach 8x25 mg/kg (= 200 mg/kg) Ara-C innerhalb von 21 Stunden im Duodenum.

Bei der prozentualen Darstellung der Aktivitäten ist das einheitliche Verhalten der vier gemessenen Enzyme deutlich zu erfassen. Saccharase, Lactase und Trehalase zeigten schon nach 14 Stunden einen deutlichen Aktivitätsabfall. Zwischen der 20.ten und der 24.ten Stunde erreichten alle Enzyme ihren tiefsten Wert. Die Aktivitäten waren reduziert auf Werte zwischen 50 und 70 % der Norm. Für die Saccharase und die Maltase waren diese Reduktionen signifikant.

Im Vergleich zur Stoßtherapie mit 1 x 60 mg/kg im Duodenum, bei der ein sehr rascher Rebound-Effekt bis zur 48.ten Stunde erfolgte, kam es bei der Kurzzeit-Behandlung verzögert zu einer überschießenden Erholung. Es zeigte sich eine Gipfelverschiebung um 24 Stunden. Einheitlich erreichten die vier gemessenen Enzyme bei 72 Stunden ihren höchsten Wert (115 bis 122 % der Ausgangswerte). Das weitere Verhalten ähnelte dem bei der Stoßbehandlung. Über eine geringe Unterschreitung der Ausgangswerte erfolgte ein allmähliches Einpendeln um den Null-Wert und Werte darüber. Trotz der massiven Anfangsschädigung kam es zu einer völligen Restitution. Die Werte am Versuchsende (nach 288 Stunden) lagen zwischen 97 und 126 % der Norm (Abb. 19, Tab. 8).

Wilcoxon-Test, Kruskal-Wallis-Test

Duodenum 200 mg/kg Ara-C

	14	20	3	24	48	72	120	168	216	288	
T	102.5 ¹	4.0	-11.0	7.0	-13.0 ¹	-7.0	12.0	-4.0	2.0	8.0	SAC
U	77.5 ¹	14.0	7.0	11.0	5.0 ¹	11.0	6.0	14.0	16.0	10.0	
R	2.28 ¹	0.64	-1.76	1.12	-2.08 ¹	-1.12	1.92	-0.64	0.32	1.28	
B	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
K.W. H = 27.38 ² , χ^2 -verteilt mit 10 FG, 1 Bindung											
T	22.5	-2.0	6.0	-7.5	1.0	-6.0	1.0	2.5	-7.5	7.0	LAC
U	157.5	16.0	12.0	10.5	17.0	12.0	17.0	15.0	10.5	11.0	
R	0.50	-0.32	0.96	-1.20	0.16	0.96	0.16	0.40	-1.20	1.12	
B	4	1	1	2	0	0	0	1	1	1	
K.W. H = 7.31, χ^2 -verteilt mit 10 FG, 15 Bindungen											
T	2.0	13.0 ¹	-12.0	2.0	-8.0	-4.0	12.0	-4.0	-1.0	4.0	MAL
U	178.0	5.0 ¹	6.0	16.0	10.0	14.0	6.0	14.0	17.0	14.0	
R	0.04	2.08 ¹	-1.92	0.32	-1.28	-0.64	1.92	0.64	-0.16	0.64	
B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
K.W. H = 19.24 ¹ , χ^2 -verteilt mit 10 FG											
T	57.0	10.0	-13.0 ¹	-8.0	-1.0	-9.0	15.0 ¹	-9.0	-11.0	5.0	TRE
U	123.0	8.0	5.0 ¹	10.0	17.0	9.0	3.0 ¹	9.0	7.0	13.0	
R	1.27	1.60	-2.08 ¹	-1.28	-0.16	-1.44	2.40 ¹	-1.44	-1.76	0.80	
B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
K.W. H = 24.48 ² , χ^2 -verteilt mit 10 FG											

¹ = signifikant (p < 0,05)

² = signifikant (p < 0,01)

Tab. 8 : Statistische Testgrößen für das Duodenum zu den

Abb. 14, 15, 16, 17, 19.

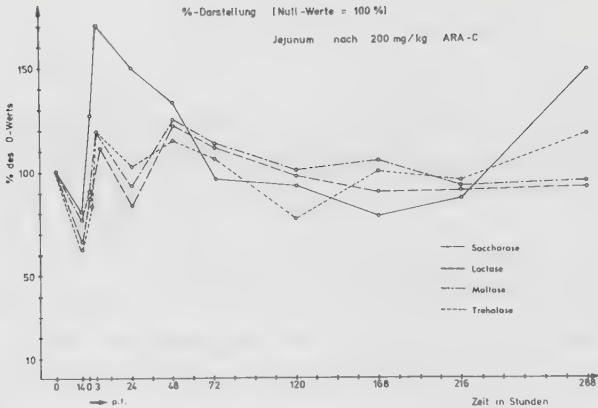


Abb. - 2o - : Prozentuale Darstellung der Disaccharidase-Aktivitäten nach 8x25 mg/kg (= 200 mg/kg) Ara-C innerhalb von 21 Stunden im Jejunum.

Bei groben Vergleich der Prozentdarstellungen für das Jejunum können zwischen der Stoßtherapie mit 1 x 60 mg/kg Ara-C und 200 mg/kg innerhalb von 21 Stunden folgende Unterschiede herausgestellt werden :

Bei der Stoßbehandlung zeigte sich am Anfang ein signifikanter Abfall aller Disaccharidase-Aktivitäten, anschließend eine Latenzphase bis zur 120.ten Stunde und erst zwischen dem 5.ten und 10.ten Tag nach Versuchsbeginn ein signifikanter Wiederanstieg (Abb. 13). Bei der Kurzzeit-Behandlung mit acht Einzeldosen von jeweils 25 mg/kg, verabreicht innerhalb von 21 Stunden, fielen die Aktivitäten anfangs wie bei der Stoßbehandlung ab (tiefste Werte bei 14 Stunden nach Versuchsbeginn).

Die Erholung vollzog sich hier dagegen innerhalb kürzester Zeit.

24 Stunden nach Versuchsbeginn lagen alle Disaccharidase-Aktivitäten über den Normalwerten. Der weitere Verlauf unterschied sich dann nicht mehr (Abb. 20 und 13, Tab. 7 und 9).

Wilcoxon-Test, Kruskal-Wallis-Test

Jejunum 200 mg/kg Ara-C

	14	20	3	24	48	72	120	168	216	288	
T	116.0 ²	-13.0 ¹	-10.0	11.0	-16.0 ²	6.0	4.0	3.0	-1.0	-2.0	SAC
U	64.0 ²	5.0 ¹	8.0	7.0	2.0 ²	12.0	14.0	15.0	17.0	16.0	
R	2.58 ²	-2.08 ¹	-1.60	1.76	-2.50 ¹	0.96	0.64	0.48	-0.16	-0.32	
B	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
K.W., H = 22.75 ¹ , χ^2 - verteilt mit 10 FG, 2 Bindungen											
T	43.0	-11.0	-9.0	4.0	4.0	11.0	0.0	4.0	-8.0	-9.0	LAC
U	137.0	7.0	9.0	14.0	14.0	7.0	18.0	14.0	10.0	9.0	
R	0.95	-1.76	-1.44	0.64	0.64	1.76	0.00	0.64	-1.28	-1.44	
B	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
K.W., H = 24.70 ² , χ^2 - verteilt mit 10 FG, 10 Bindungen											
T	93.0	-7.0	-10.0	10.0	-14.0 ¹	10.0	8.0	-4.0	11.0	-3.0	MAL
U	87.0	11.0	8.0	8.0	4.0 ¹	8.0	10.0	14.0	7.0	15.0	
R	2.07 ¹	-1.12	-1.60	1.60	-2.24 ¹	1.60	1.28	-0.64	1.76	-0.48	
B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
K.W., H = 21.23 ¹ , χ^2 - verteilt mit 10 FG											
T	134.0 ²	-12.0	-9.0	6.0	-3.0	1.0	10.0	-12.0	6.0	-13.0 ¹	TRE
U	46.0 ²	6.0	9.0	12.0	15.0	17.0	8.0	6.0	12.0	5.0 ¹	
R	1.98 ²	-1.92	-1.44	0.96	-0.48	0.16	1.60	-1.92	0.96	-2.08 ¹	
B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
K.W., H = 26.72 ² , χ^2 - verteilt mit 10 FG											

¹ = signifikant ($p < 0,05$)

² = signifikant ($p < 0,01$)

Tab. 9 : Statistische Testgrößen für das Jejunum zu den

Abb. 14, 15, 16, 18, 20.

4.4 Cytosin-Arabinosid bei Langzeitbehandlung

4.4.1 Behandlungsart

Im Langzeitversuch wurde den Tieren über 10 Tage alle 12 Stunden eine Einzeldosis von 6 mg/kg Körpergewicht intraperitoneal injiziert.

Die erreichte Gesamtdosis betrug demnach für jede Ratte 120 mg/kg.

Die Disaccharidase-Aktivitäten wurden jeweils im Abstand von 24 Stunden gemessen. Alle Tiere überlebten den Versuch bis zum Meßzeitpunkt.

4.4.2 Makroskopische Veränderungen

Nach 72 Stunden war das Fell der Tiere struppig. Die Darmschleimhaut war nach 96 Stunden im Duodenum und vor allem im Jejunum leichter abzuheben als normal. Nach 120 Stunden waren die Ratten sehr unruhig und aggressiv.

4.4.3 Histologische Veränderungen

Bei der Langzeitbehandlung ergaben sich in den histologischen Untersuchungen keine lichtmikroskopisch nennenswerten Veränderungen. Es fanden sich keine Ödeme, keine Zellinfiltrationen und keine Degenerationen weder reversibler noch irreversibler Art.

4.4.4 Verhalten der Disaccharidase-Aktivitäten

Bei der Behandlung mit Cytosin-Arabinosid (6 mg/kg alle 12 Stunden über 10 Tage) zeigte die Saccharase-Aktivität im Duodenum und Jejunum einen deutlichen Abfall bis zur 72.ten Stunde auf Werte zwischen 50 und 58 % der Ausgangswerte. Im Jejunum war dieser Abfall signifikant.

In beiden Darmabschnitten erfolgte eine Regeneration der Aktivitäten trotz weiterer Behandlung. Im Duodenum wurde nach signifikantem Anstieg bei 96 Stunden ein Gipfel mit 133 % des Normalwertes erreicht. Die Reaktion im Jejunum verlief etwas träger; hier wurde der Erholungsgipfel 24 Stunden später bei 120 Stunden mit 98 % des Ausgangswertes erreicht. Während die Aktivitätswerte im Duodenum im Verlaufe der 10-tägigen Behandlung nur mäßige Schwankungen zeigten, um am Ende schließlich bei ca. 75 % des Normalwertes zu liegen, reagierten die Enzyme im Jejunum deutlicher auf die fortlaufende Dosierung. Bei 192 Stunden kam es ein zweites Mal zu einem signifikanten Abfall auf Werte um 36 % der Norm. Der Endwert im Jejunum nach 240 Stunden betrug jedoch wieder 81 % des Normalwertes (Abb. 21, Tab. 10 und 11).

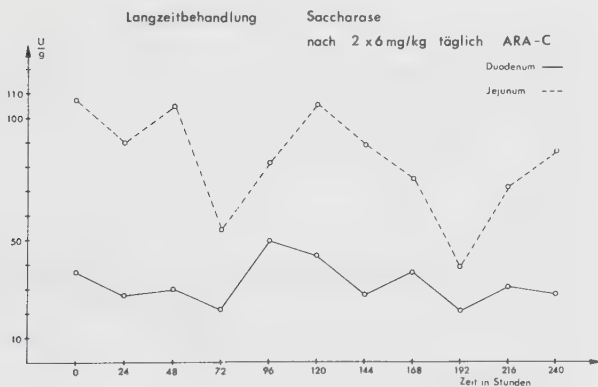


Abb. - 21 - : Saccharase-Aktivitäten (arithmetische Mittelwerte aus jeweils 6 Einzelwerten) der Ratte nach täglich 2x6 mg/kg Ara-C über 10 Tage in Duodenum und Jejunum.

Die Lactase-Aktivitäten zeigten im Duodenum, wie schon bei der Kurzzeit- und Stoßbehandlung, einen im Vergleich zu dem gleichsinnigen Verhalten von Saccharase, Maltase und Trehalase, atypischen Verlauf. Die Lactase-Aktivitäten fielen bis zur 72.ten Stunde auf einen absoluten Tiefstwert während der gesamten Behandlungsdauer (5 % des Ausgangswertes). Es kam jedoch nicht zu einer Overshoot-Reaktion wie bei den anderen Enzymen, sondern es folgte ein langsamer, kontinuierlicher Anstieg der Aktivitäten, die am Ende der Behandlung nach 10 Tagen einen Wert von 70,5 % des Ausgangswertes erreichten (Abb. 22, Tab. 10).

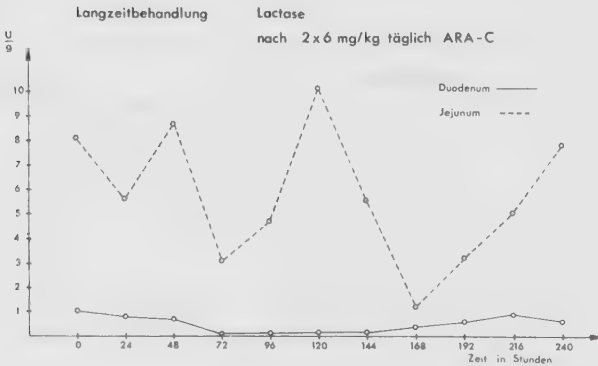


Abb. - 22 - : Lactase-Aktivitäten (arithmetische Mittelwerte aus jeweils 6 Einzelwerten) der Ratte nach täglich 2x6 mg/kg Ara-C über 10 Tage in Duodenum und Jejunum.

Im Jejunum ging das Verhalten der Lactase konform mit den drei anderen Enzymen: initialer steiler Abfall bei 72 Stunden auf einen Wert von 37 % der Norm, überschießende Erholung bei 120 Stunden mit einem Wert von 125 % des Ausgangswertes, zweiter deutlicher Abfall bei 192 Stunden auf ca. 40 % des Normalwertes und anschließende Rückkehr in die Nähe des Ausgangswertes (Abb. 22, Tab. 11).

Die Maltase-Aktivitäten zeigten in beiden Darmabschnitten einen signifikanten Abfall bis zur 72.ten Stunde (50 % bzw. 60 % des Ausgangswertes). Es folgte eine Phase der Regeneration bis zur 120.ten Stunde, wobei sowohl im Duodenum als auch im Jejunum Werte nahe der Ausgangswerte erreicht wurden. Im weiteren Verlauf sanken die Aktivitäten im Duodenum bis zum Ende des Versuches auf Werte von ca. 75 % der Norm (Abb. 23, Tab. 10).

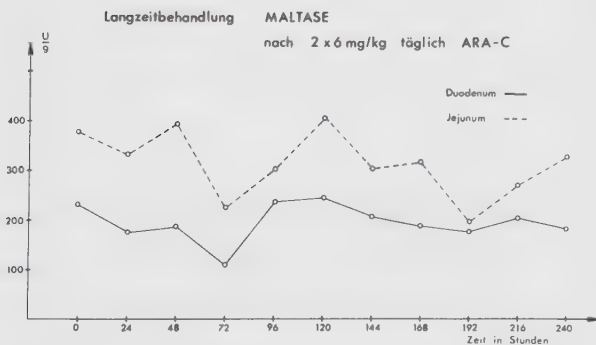


Abb. - 23 - : Maltase-Aktivitäten (arithmetische Mittelwerte aus jeweils 6 Einzelwerten) der Ratte nach täglich 2x6 mg/kg Ara-C über 10 Tage in Duodenum und Jejunum.

Im Jejunum zeigte sich im Anschluß an die Regenerationsphase eine signifikante Reduktion bis zur 192.ten Stunde auf die Hälfte des Ausgangswertes. Am Ende der Behandlung nach 10 Tagen betrug die Maltase-Aktivität 89 % des Ausgangswertes (Abb. 23, Tab. 11).

Die Trehalase-Aktivitäten zeigten dasselbe typische Verhalten wie die Saccharase- und Maltase-Aktivitäten: Gleichsinniger Verlauf der Kurven in Duodenum und Jejunum in den ersten 72 Stunden, danach unterschiedliche Reaktion auf die weitere Behandlung. Wieder fanden sich sowohl im Duodenum als auch im Jejunum der initiale signifikante Abfall mit Tiefstwerten bei der 72.ten Stunde nach Therapiebeginn (Werte bei 22 % und 21 % der Norm) (Abb. 24,25).

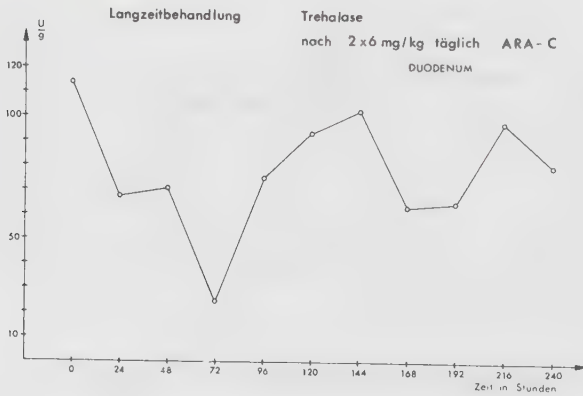


Abb. - 24 - : Trehalase-Aktivitäten (arithmetische Mittelwerte aus jeweils 6 Einzelwerten) der Ratte nach täglich 2x6 mg/kg Ara-C über 10 Tage im Duodenum.

Im Duodenum folgte dem Absinken ein signifikanter Anstieg der Aktivität zwischen der 72.ten und 96.ten Stunde und weitere kontinuierliche Regeneration bis ein Höchstwert von 87 % der Norm bei 144 Stunden erreicht war. Über einen signifikanten Abfall nach dieser Erholung erreichte die Enzymaktivität schließlich einen Wert von 70 % des Ausgangswertes (Abb. 24, Tab. 10).

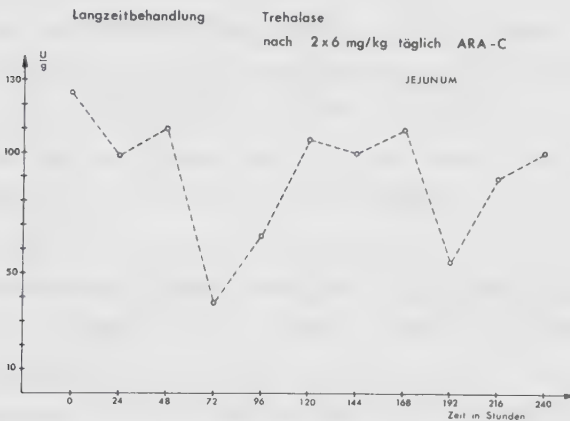


Abb. - 25 - : Trehalase-Aktivitäten (arithmetische Mittelwerte aus jeweils 6 Einzelwerten) der Ratte nach täglich 2x6 mg/kg Ara-C über 10 Tage im Jejunum.

Im Jejunum verlief die Regenerationsphase mit einem allmählichen Aktivitätsanstieg bis zur 168.ten Stunde, wo ein Wert nahe des Ausgangswertes erreicht wurde. Gegenüber der Saccharase und Maltase erreichte die Trehalase den Erholungsgipfel 48 Stunden später.

Anschließend fiel die Trehalase bei 192 Stunden nochmals signifikant ab auf 44,5 % der Norm. Bis zum Ende der Therapie kehrte die Trehalase-Aktivität auf ca. 80 % des Ausgangswertes zurück (Abb. 25, Tab. 11).

Bei der Prozent-Darstellung waren die synchronen Aktivitätsänderungen der intestinalen Enzyme besonders deutlich. Dies galt sowohl für das Duodenum als auch für das Jejunum. Eine Ausnahme machte die Lactase in ihrem Verhalten im Duodenum, was sich schon bei der Stoßtherapie zeigte. Im Duodenum zeigten die Saccharase, Maltase und Trehalase einen wesentlichen Abfall ihrer Aktivitäten bis zur 72.ten Stunde nach Therapiebeginn; bei der Maltase und Trehalase war der Abfall signifikant.

Bei diesen beiden Enzymen kam es zu einer Reduktion auf etwa die Hälfte ihrer Ausgangswerte. Am empfindlichsten getroffen war die Trehalase, deren Aktivität bis auf 22 % der Norm sank. Danach kam es auffälligerweise trotz weiterer Behandlung zu einem raschen Wiederanstieg (Reboundeffekt im Sinne Eders) (26,27,28,29). Außer der Lactase zeigten alle drei Enzyme nach der 72.ten Stunde einen signifikanten Aktivitätsanstieg, wobei die Saccharase ihren höchsten Wert bei 96 Stunden, die Maltase bei 120 Stunden, und die Trehalase bei 144 Stunden erreichte. Unter dem Einfluß der weiteren Behandlung sanken die Aktivitäten mit geringen Schwankungen auf Werte von etwa 70 % der Ausgangswerte (Abb. 26, Tab. 10).

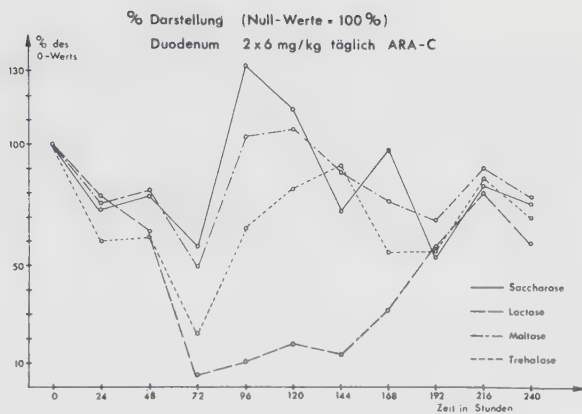


Abb. - 26 - : Prozentuale Darstellung der Disaccharidase-Aktivitäten
nach täglich 2x6 mg/kg Ara-C über 10 Tage im Duodenum.

Wilcoxon-Test, Kruskal-Wallis-Test

Duodenum 6 mg/kg/12 Std.Ara

	24	48	72	96	120	144	168	192	216	240	
T	66.0	-3.0	8.0	-15.0 ¹	2.0	11.0	-2.0	8.0	-8.0	4.0	SAC
U	114.0	15.0	10.0	3.0 ¹	16.0	7.0	16.0	10.0	10.0	14.0	
R	1.47	-0.48	1.28	-2.40 ¹	0.32	1.76	-0.32	1.28	-1.28	0.64	
B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
K.W. H = 19.10 ¹ χ^2 - verteilt mit 10 FG, 1 Bindung											
T	27.0	5.0	9.0	-0.5	-0.5	-2.0	-10.0	3.0	-9.0	7.0	LAC
U	153.0	13.0	9.0	17.5	17.5	16.0	8.0	15.0	9.0	11.0	
R	0.60	0.80	1.60	-0.12	-0.12	-0.42	-1.63	0.48	-1.45	1.12	
B	5	1	1	1	1	1	1	1	2	2	
K.W. H = 42.68 ² χ^2 - verteilt mit 10 FG, 12 Bindungen											
T	98.0 ¹	-1.0	13.0 ¹	-17.0 ²	-2.0	6.0	7.0	1.0	-5.0	6.0	MAL
U	82.0 ¹	17.0	5.0 ¹	1.0 ²	16.0	12.0	11.0	17.0	13.0	12.0	
R	2.18 ¹	-0.16	2.08 ¹	-2.72 ²	-0.32	0.96	1.12	0.16	-0.80	0.96	
B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
K.W. H = 24.48 ² χ^2 - verteilt mit 10 FG,											
T	123.0 ²	-5.0	17.0 ²	-15.0 ¹	-5.0	-2.0	13.0 ¹	1.0	-10.0	7.0	TRE
U	57.0 ²	13.0	1.0 ²	3.0 ¹	13.0	16.0	5.0 ¹	17.0	8.0	11.0	
R	2.74 ²	-0.80	2.72 ²	-2.40 ¹	-0.80	-0.32	2.08 ¹	0.16	-1.60	1.12	
B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
K.W. H = 43.21 ² χ^2 -verteilt mit 10 FG											

¹ = signifikant (p < 0,05)

² = signifikant (p < 0,01)

Tab. 10 : Statistische Testgrößen für das Duodenum zu den Abb. 21,22,23, 24,26.

Im Unterschied zum Duodenum zeigten im Jejunum die vier untersuchten Enzyme über die gesamte Behandlungsdauer ein einheitliches Aktivitätsmuster.

Nach Behandlungsbeginn bis zur 72.ten Stunde fielen alle Enzymaktivitäten gravierend ab bis auf Werte zwischen 31 % und 60 % der Norm.

Für die Saccharase, Maltase und Trehalase waren diese Abfälle signifikant. Nach der reaktiven Regeneration innerhalb der folgenden 48 Stunden lagen bei der 120.ten Stunde die Aktivitäten von Trehalase und Saccharase bei 84,5 % und 98,5 %, für die Maltase und Lactase bei 110 % und 125 % der Norm. Es kam im Verlaufe der Behandlung noch einmal zu einem signifikanten Abfall der Enzyme bei 192 Stunden mit Werten zwischen 36 % und 51 % der Norm. Am Ende der Therapie waren die Aktivitäten wieder auf 90 % der Ausgangswerte angestiegen (Abb. 27, Tab. 11).

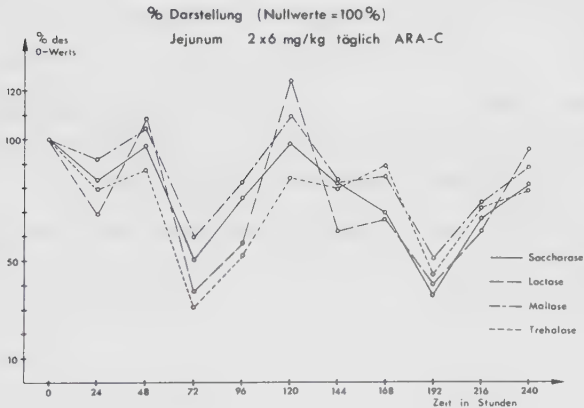


Abb. - 27 - : Prozentuale Darstellung der Disaccharidase-Aktivitäten nach täglich 2x6 mg/kg Ara-C über 10 Tage im Jejunum.

Wilcoxon-Test, Kruskal-Wallis-Test

Jejunum 6 mg/kg/12 St.Ara-C

	24	48	72	96	120	144	168	192	216	240	
T	70.0	-4.0	16.0 ²	-11.0	-8.0	8.0	8.0	16.0 ²	-15.0 ¹	-8.0	SAC
U	110.0	14.0	2.0 ²	7.0	10.0	10.0	10.0	2.0 ²	3.0 ¹	10.0	
R	1.56	-0.64	2.56 ¹	-1.76	-1.28	1.28	1.28	2.56 ¹	-2.40 ¹	-1.28	
B	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
K.W. H = 38.15 ² , χ^2 - verteilt mit 10 FG, 1 Bindung											
T	56.5	-12.0	18.0 ²	-7.0	-16.0 ²	16.0 ²	-5.0	11.0	-8.0	-7.0	LAC
U	123.0	6.0	0.0 ²	11.0	2.0 ²	2.0 ²	13.0	7.0	10.0	11.0	
R	1.26	-1.92	2.88 ²	-1.12	-2.56 ¹	2.56 ¹	-0.80	1.76	-1.28	-1.12	
B	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
K.W. H = 31.74 ² , χ^2 - verteilt mit 10 FG, 8 Bindungen											
T	36.0	-4.0	15.0 ¹	-10.0	-10.0	10.0	0.0	13.0 ¹	-9.0	-12.0	MAL
U	144.0	14.0	3.0 ¹	8.0	8.0	8.0	18.0	5.0 ¹	9.0	6.0	
R	0.80	-0.64	2.40 ¹	-1.60	-1.60	1.60	0.00	2.08 ¹	-1.44	-1.92	
B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
K.W. H = 31.27 ² , χ^2 - verteilt mit 10 FG											
T	96.0 ¹	-1.0	18.0 ²	-10.0	-11.0	0.0	-2.0	15.0 ¹	-11.0	-6.0	TRE
U	84.0 ¹	17.0	0.0 ²	8.0	7.0	18.0	16.0	3.0 ¹	7.0	12.0	
R	2.14 ¹	-0.16	2.88 ²	-1.60	-1.76	0.00	-0.32	2.40 ¹	-1.76	-0.96	
B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
K.W. H = 43.95 ² , χ^2 - verteilt mit 10 FG											

¹ = signifikant (p < 0,05)

² = signifikant (p < 0,01)

Tab. 11 : Statistische Testgrößen für das Jejunum zu den Abb. 21,22,23,25,27.

5. Diskussion

5.1 Zellerneuerung im Magen-Darm-Kanal

Die Morphologie und Proliferationskinetik der Darmschleimhaut ist bei Laboratoriumstieren und beim Menschen aus zahlreichen Untersuchungen gut bekannt (27,28,52,53,54,63,94). Im Gegensatz zu den parenchymatösen Organen findet beim Oberflächenepithel des Magen-Darm-Kanals eine ständige Zellerneuerung statt. Auf Grund der hohen Zellabstoßungsrate wird dieses Gewebe auch als Wechselgewebe bezeichnet. Die Schleimhaut des Dünndarms baut sich aus drei histomorphologisch exakt trennbaren Schichten auf: der Muscularis mucosae, der Lamina propria und der Lamina epithelialis. Die Muscularis mucosae ist gekennzeichnet durch spiralförmige Züge glatter Muskulatur. Sie ist für die Bewegung der Schleimhaut (Zottenpumpe) verantwortlich, die unabhängig von der Muskelwand des Darmes (Peristaltik) erfolgt. Die Lamina propria ist aus retikulärem Bindegewebe aufgebaut und enthält Lymphozyten, Granulozyten und Makrophagen. Die Lamina epithelialis besteht aus einschichtigem Zylinderepithel. In dieser Schicht lassen sich zwei Drüsentypen differenzieren: 1. sezernierende Epithelien, bestehend aus Becherzellen mit apokriner Sekretion, Paneth'schen Körnerzellen und enterochromaffinen Zellen im Fundus der Krypten; 2. resorbierende Epithelien. Die Resorptionszellen des Mucosaepithels zeigen, wie aus elektronenoptischen Untersuchungen hervorgeht, auf der dem Darmlumen zugewandten Seite einen Bürstensaum (58,62). Dieser besteht aus regelmäßigen, fingerähnlichen Fortsätzen, den Mikrovilli, deren Höhe von der Basis der Darmzotten zur Spitze hin zunimmt. Die Mikrovilli sind $0,7 - 1,5 \mu\text{m}$ lang und $0,1 \mu\text{m}$ dick, der Zwischenraum der Mikrovilli variiert von $0,01 - 0,05 \mu\text{m}$.

Sie sind von einer Plasmamembran eingehüllt, die eine Dicke von ca. 85 - 110 Å hat (62). Die Mikrovilli werden von der Glycocalix bedeckt, die aus einer mucopolysaccharidreichen Substanz besteht. Zwischen beiden oder direkt in der Membran finden sich die Disaccharidasen, die alkalische Phosphatase, die ATP-ase und noch einige andere Enzyme. Alle α -Glucosidasen scheinen spezifische Bürstensaumenzyme zu sein, während von den β -Galaktosidasen sich nur die Lactase im Bürstensaum findet (20).

Die Bürstensaummembran stellt eine digestiv-absorptive Oberfläche dar. Die Disaccharidase-Aktivitäten finden sich vor allem in den apikalen Teilen der Villi und Krypten (17,20).

Die Zellneubildung findet ausschließlich in der Regenerationszone in den Krypten statt. Das Verhältnis von Krypten zu Villi beträgt ca. 3 : 1. Die obere Begrenzung der Krypten wird durch die intervillösen Ränder gebildet, deren Umfang sich dem Zellverschleiß unter wechselnden Bedingungen anzupassen in der Lage ist (25,60).

Am Kryptengrund finden sich undifferenzierte, teilungsfähige Zellen, deren Mitoserate bei ca. 3 % liegt. Die mitotische Aktivität ist über den ganzen Tag konstant (54). Die durchschnittliche Mitosedauer beträgt 90 Minuten. Aus der Mitoserate und der Mitosedauer läßt sich berechnen, daß nach etwa 38 Stunden alle Zellen der Krypte eine Mitose durchgemacht haben. Die Zahl der in DNS-Synthese befindlichen Zellen der Regenerationszone beträgt 35 - 42 % (25,79). Beim Menschen liegt die mittlere Generationszeit der teilungsfähigen undifferenzierten Kryptenzellen bei etwa 24 Stunden, bei Maus und Ratte bei 12 bis 18 Stunden (81).

Die aus der Zellteilung hervorgehenden Tochterzellen wandern durch den Kryptenhals auf die Zotte und ersetzen dort kontinuierlich das Resorptions-epithel. An der Zottenspitze werden die hochgewanderten Zellen im Bereich einer Extrusionszone in das Darmlumen abgestoßen (96). Im Verlauf der Auswanderung verlieren die Zellen am Zottenhals ihre Teilungsfähigkeit bei gleichzeitiger Differenzierung. Diese geht mit der Entwicklung der Bürstensaumenzyme einher (25).

Da diese Enzyme histochemisch darstellbar sind, lassen sich morphologisch die Regenerationszone und die Zone der differenzierten Zellen exakt voneinander abgrenzen (27).

Die Zellwanderung vom Kryptengrund bis zur Zottenspitze dauert beim Menschen 5 - 7 Tage, bei den üblichen Laboratoriumstieren Maus und Ratte 1 - 3 Tage (53,66,79). Die Zellwanderung von den Krypten zur Zottenspitze ist kein direkter Prozeß. Es ist wahrscheinlich, daß die Epithelien, die von der Krypte hochwandern, auf irgendeine Weise sich am Kryptenrand bewegen, um bei Bedarf endgültig auf die Villi zu wandern, da erwiesenermaßen mehr Krypten als Villi vorhanden sind. Die intervillösen Ränder repräsentieren wahrscheinlich die Wanderungslinien (58). Unter pathologischen Bedingungen ändert sich die Größe dieser Ränder (60).

Die Intensität des Zellersatzes hängt ab von der Generationszeit, der Zahl der zur Regeneration befähigten Zellen, von der Wanderungsrate und von der Zahl der zu ersetzenden differenzierten Zottenepithelien (25). 24 Stunden nach der Zellteilung sind knapp die Hälfte der Tochterzellen auf die Villi gewandert, nach 48 Stunden erreichen sie die Zottenspitze. Die Regenerationspopulation nimmt entsprechend der Zottenhöhen entlang der einzelnen Darmabschnitte ab. Der hauptsächliche Zellverlust geschieht an der Zottenspitze.

Ein Steady-state-Zustand besteht, wenn Zellneubildung, Zellwanderung und Zellverlust im Gleichgewicht stehen (25).

5.2 Faktoren, die die Zellerneuerung beeinflussen

Das physiologische Gleichgewicht zwischen Zellerneuerung, Zellwanderung und Zellverlust wird von verschiedenen Faktoren beeinflusst.

Unter physiologischen Bedingungen werden 63,5 % des Duodenalepithels und 74 % des Ileumepithels pro Tag erneuert. Die durchschnittliche Lebensdauer des Duodenalepithels beträgt 1,57 Tage, die des Ileumepithels 1,35 Tage (54).

Unter Einwirkung äußerer Faktoren können diese Normwerte stark schwanken. Ein wesentlicher Faktor ist offensichtlich die Bakterienbesiedlung des Darmes; denn bei keimfrei aufgezogenen Tieren kommt es zu einer Längenzunahme der Zotten bei gleichzeitiger Abflachung der Krypten und Reduktion der mitotischen Aktivität (1,27). Außerdem ist die Zellwanderungsrate auf die Hälfte herabgesetzt. Zugleich ist die DNS-Synthese in den Zellen signifikant vermindert (25).

Ein ähnlicher Effekt tritt auf, wenn die Darmflora durch Antibiotika geschädigt wird (33,73).

Im Hungerzustand und bei eiweißarmer Ernährung tritt eine verminderte Zellneubildung mit Verkürzung der Zotten auf (10,24,46,91). Ebenso geht die physiologische Alterung mit einer Verlangsamung der Zellproliferation einher (27,94).

Eine Steigerung der Zellproliferation wird nach einer Darmteilresektion beobachtet (81).

Darüberhinaus scheinen lokale nutritive Effekte, genetische Faktoren sowie Faktoren des Galle-Pankreas-Sekrets die Zellerneuerung zu beeinflussen (81). Tagesrhythmische Schwankungen in der Zellerneuerung konnten weder mit der Mitosezählung noch mit autoradiographischen Untersuchungsmethoden nachgewiesen werden (25,27).

5.3 Zellerneuerung unter pathologischen Bedingungen

Unter verschiedenen pathologischen Bedingungen kann es zu einer Beeinträchtigung der Darmmukosa mit Zottenverkürzung kommen, die bis zur totalen Zottenatrophie führen kann.

Die Zellneubildungsrate der Mukosa weist zwei Abschnitte der Zellproliferation auf: am Kryptengrund findet sich eine Population maximaler Zellproliferation, während in den oberen Kryptenabschnitten die Zellbildungsrate deutlich geringer ist. Bei einer gestörten Epithelregeneration lassen sich im Experiment und beim Menschen verschiedene Typen der Schleimhautatrophie nachweisen mit dem klinischen Bild einer Malabsorption.

Die Schädigung der Regenerationszone führt über eine einfache Schleimhautatrophie mit verschmälelter Kryptenzone und verkürzten Zotten zu einer Totalatrophie. Man spricht dabei von einer hyporegeneratorischen Reaktionsform. Im Endzustand fehlen die Zotten, die Kryptenzone ist schmal.

Die Schädigung der Differenzierungszone und der differenzierten Zottenzellen führt zu Zottenverkürzung durch vermehrten Zellverlust und infolge der mangelhaften Differenzierung zur Beibehaltung der Regenerationsfähigkeit mit Kriptenverlängerung. Es entsteht eine partielle und letztlich totale Zottenatrophie. In diesem Fall liegt die hyperregeneratorische Reaktionsform vor (25,27).

Klassisches Beispiel der hyperregeneratorischen Reaktionsform ist die einheimische Sprue, bzw. Glutenenteropathie. Bei der Entstehung der hyperregeneratorischen Schleimhautveränderungen spielen überwiegend intraluminalen Faktoren eine Rolle (81).

Die hyporegeneratorische Reaktionsform wird besonders nach Einwirken ionisierender Strahlen und Zytostatika beobachtet (6,8,25,26,37,45,61,76,90,95). Die Schädigungen an der Darmmukosa sind dabei grundsätzlich abhängig von der Art der Noxe, der Intensität, der Dauer der Einwirkung und vom Abstand der Applikationen.

Bei einer totalen Blockade der Wachstumszone, z.B. durch SP-I-Sandoz (Kurzzeittherapie von 50 mg/kg, 48 Stunden lang in 4stündlichem Abstand i.p.) tritt durch die Unterbrechung der Regeneration der Schleimhaut ein völliger Verlust des Nachschubs für die Zottenepithelien auf. Es kommt zu Zottenverkürzungen, durch Freilegung der Zottenspitzen zu Erosionen und Ulzerationen der Schleimhaut (26).

Bei einer kurzfristigen Blockade, etwa durch Methotrexat kommt es zu einer Verzögerung der Zellneubildung und zu einem mäßigen Verlust an proliferierenden Zellen. Ein vorübergehender Bildungsstop verursacht eine Unterbrechung des physiologischen Zellersatzes der Zottenzellen. Diese können zwar bei Einschränkung des Nachschubs verlängert überleben, jedoch führt der weiterlaufende Zellverlust an der Zottenspitze innerhalb von 2 - 3 Tagen am Dünndarm zu einer Zottenatrophie. Nach Beendigung der Blockade kommt es zu einer Verkürzung der Generationszeit, zu einer Zunahme der in DNS-Synthese befindlichen Zellen und zu einer über die Norm gesteigerten Wachstumsrate (27). Insgesamt nimmt die Zottenhöhe nach 6 Tagen wieder zu und alle vorher erwähnten Änderungen kehren zur Norm zurück (26,27).

Bei einer Dauerapplikation von Methotrexat oder anderen Zytostatika in niedrigeren Dosen kommt es zu einer Abnahme der gesamten Proliferationspopulation. Der dadurch bedingte verringerte Zellnachschub führt zu einer langsamen Zottenatrophie. Die Wanderungsrate hier wird nicht beeinflußt.

Bei einer Langzeitapplikation, die eine völlige Unterbrechung der Zellneubildung hervorruft, kommt es innerhalb von 24 - 48 Stunden über eine Zottenatrophie zur Erosion der Zottenspitzen mit nachfolgender Ulzeration der gesamten Schleimhaut.

Bei einer wiederholten, zeitlich begrenzten Blockade der Zellneubildung zeigen sich im Dünndarm keine oder nur geringe Ulzerationen. Dies ist offensichtlich bedingt durch die größere Zellneubildungsrate in den Erholungsphasen, wodurch noch genügend Zellen zum Nachschub zur Verfügung stehen (27). Dieser Effekt korreliert mit der Tatsache, daß bei einer Hemmung der Proteinsynthese von weniger als 80 % entweder keine Verringerung der sich teilenden Zellen auftritt oder nur ein geringer partieller Rückgang. Bei einer Hemmung von 80 % und mehr resultiert ein kompletter Abbruch der mitotischen Aktivität (96).

Die resultierenden histologischen Veränderungen sind bei den Zytostatika aus verschiedenen Substanzgruppen im wesentlichen gleich (2,9,12,34).

5.4 Funktionelle Störungen nach Anwendung von Zytostatika

Die morphologischen Veränderungen der Darmschleimhaut unter verschiedenen pathologischen Bedingungen gehen mit unterschiedlichen Funktionsminderungen einher. Für die Charakterisierung eines Mukosaschadens sind sowohl histologische als auch funktionelle Untersuchungen von großer Wichtigkeit, da Morphe und Funktion nicht zwangsläufig korrelieren.

Roche et al. untersuchten die Glukoseabsorption nach einer einmaligen Dosis von 5-Fluorouracil (84). Neben morphologischen Veränderungen fanden sie eine Einschränkung der Glukoseabsorption. 6 Tage nach Versuchsbeginn war die Schleimhaut wieder intakt und die Glukoseabsorption nicht mehr vermindert.

Die Einschränkung der Funktion war eng korreliert mit der Zellzahl und der Zottenhöhe, die in den ersten Versuchstagen deutlich abnahmen. Nach Normalisierung der Zellzahl und der Zottenhöhe war auch die Funktion wieder intakt. Die Absorptionskapazität der Einzelzelle schien dagegen nicht eingeschränkt zu sein.

Ein davon abweichendes Ergebnis fanden Robinson et al. (82,83), die als Parameter für die intestinale Funktion die Absorption von Aminosäuren wählten. Nach Gabe von 40 mg/kg Methotrexat^R traten schwere morphologische Veränderungen an der Darmmukosa der Versuchstiere (Ratten) auf. Trotzdem blieb zunächst die Funktion der aktiven Aufnahme von Aminosäuren erhalten, wenn auch in verringertem Umfang. Erst wenn die Mukosa nahezu vollständig zerstört war, war eine aktive Funktion des Darmes nicht mehr nachweisbar. 8 Tage nach Verabreichung der hohen Methotrexat^R-Dosis hatte sich die Schleimhaut des Dünndarms erholt, histologische Veränderungen ließen sich nicht mehr nachweisen. Dennoch war die Darmfunktion noch über Tage eingeschränkt. Dieses verspätete Einsetzen der Funktionsstörung und die der morphologischen Restitution nachhinkende Erholungsphase machen deutlich, daß die morphologischen Veränderungen mit der Darmfunktion zeitlich nicht unbedingt parallel gehen müssen.

Bei Schädigung durch ionisierende Strahlen geht die Beeinträchtigung der Funktion (gemessen an der Eisenresorption) den morphologischen Veränderungen voraus (77). Daraus wurde geschlossen, daß die Einschränkung der Funktion nicht Folge der Epithelzerstörung sein könne, sondern daß ionisierende Strahlen, anders als die Zytostatika, zusätzlich den Absorptionsprozeß in den differenzierten Zottenspitzenepithelien direkt schädigen (18).

In der Reparationsphase bleibt nach Normalisierung des histologischen Bildes auch bei ionisierenden Strahlen die Funktion noch über Tage vermindert.

Bei der Beurteilung dieser voneinander abweichenden Beobachtungen muß bedacht werden, daß von den verschiedenen Autoren unterschiedliche Funktionstests herangezogen wurden und daß exakte Aussagen zu dieser wichtigen Fragestellung nur möglich sind, wenn gleiche funktionelle Parameter miteinander verglichen werden.

In weiteren Untersuchungen, in denen Morphologie und Funktion nebeneinander geprüft wurden, wurden verminderte Transportkapazitäten für verschiedene Substrate und histochemische und biochemische Veränderungen der verschiedensten Enzyme nachgewiesen (2,4,9,14,36,56,78,80).

5.5 Veränderungen der Disaccharidasen

Die Disaccharidasen sind - wie ausgeführt - an der luminalen Oberfläche in den Bürstensaummembranen der Dünndarmmukosa lokalisiert, hier in unmittelbarer Nachbarschaft mit Transportsystemen, mit denen sie funktionell verknüpft sind (16,17,68,69).

Beim Menschen sind von Bedeutung die α -Glucosidasen Saccharase, Isomaltase, Maltase und Trehalase, sowie die β -Galaktosidase Lactase (20).

Die Bestimmung der Disaccharidasen hat in den vergangenen Jahren besonderes Interesse erlangt, da man erkannt hat, daß erbliche und erworbene Disaccharidase-Mangelerscheinungen als Krankheiten auftreten (7,22,23,57).

Die Höhe der Disaccharidase-Aktivitäten variiert von Darmabschnitt zu Darmabschnitt. Die höchsten Aktivitäten finden sich im Jejunum.

Verschiedene endogene und exogene Faktoren haben einen Einfluß auf die Höhe der Aktivitäten. So ist bekannt, daß Nahrungsentzug zu einer Verminderung der Disaccharidase-Aktivitäten führt (45,67).

Von Bedeutung sind auch diätetische Faktoren. So kommt es nach saccharosereicher oder maltosereicher Kost zu einem Anstieg von Saccharase und Maltase, nicht dagegen von Lactase (42,86). Lactase ist offenbar ein "non-adaptable" Enzym (38); denn nach Lactose-Zufuhr kommt es nicht zu einem Anstieg der Lactase-Aktivität (55).

Grand und Jaksina (41) konnten in ihren Untersuchungen ausschließen, daß der unter einer kohlenhydratreichen Diät zu beobachtende Saccharase-Anstieg auf einer Zunahme der Proteinsynthese beruht. Durch Hemmung der Zellproliferation mit Actinomycin D konnte sowohl die Zellerneuerung gestoppt werden als auch die Synthese von RNS um 50 % gesenkt werden. Auch unter diesen Bedingungen kam es zu einem Anstieg der Saccharase-Aktivität, wenn die Ratten mit Saccharose gefüttert wurden.

Der diätetisch bedingte Anstieg der Disaccharidasen der Dünndarm-mukosa scheint demnach unabhängig von der Proteinsynthese, unabhängig von der RNS-Synthese und unabhängig von der Zellerneuerung zu sein (41).

Rosensweig et al. (86) nahmen dagegen an, daß die Induktion der Disaccharidasen über die Kryptenepithelien gehen müsse, da der Anpassungsvorgang bei Menschen unter einer bestimmten Diät zwei bis fünf Tage dauert, genauso lange wie die Kryptenepithelien beim Menschen brauchen, um vom Kryptengrund zur Zottenspitze zu wandern.

Eine proteinarme Kost hat offenbar keinen Einfluß auf die Höhe der Disaccharidase-Aktivitäten (78).

Ob tagesrhythmische Schwankungen vorkommen (89), ist noch nicht sicher entschieden. Hartwich (45) fand in Übereinstimmung mit proliferationskinetischen Ergebnissen anderer Untersuchungen, keine Veränderungen (27).

Dagegen sind die Disaccharidase-Aktivitäten vom hormonalen Gleichgewicht des Organismus abhängig. Besonders durch Hormone der Nebennierenrinde läßt sich ein Anstieg der Disaccharidasen provozieren (35,49).

Neuerdings ziehen Faktoren des Galle-Pankreas-Sekrets die Aufmerksamkeit auf sich, nachdem Cook et al. zeigen konnten, daß bei Ratten die Disaccharidase-Aktivitäten nach Unterbindung des Duktus choledochus im gesamten Dünndarm ansteigen (15).

Möglicherweise hat der Disaccharidase-Anstieg bei diabetischen Ratten die gleiche Ursache, da nach Erzeugung des experimentellen Diabetes mellitus mit Alloxan die exokrine Pankreasfunktion gestört sein könnte (97).

Beim Menschen findet sich dagegen weder beim Altersdiabetes noch beim insulinbedürftigen jugendlichen Diabetes ein Anstieg der Disaccharidase-Aktivitäten (11,87).

5.6 Veränderungen der Disaccharidasen unter Behandlung mit Cytosin-Arabinosid

Über den Einfluß einer zytostatischen Behandlung auf die Disaccharidasen der Dünndarmmukosa finden sich in der Literatur Angaben nach Anwendung von Colchizin (14,56), Aminopterin (65), Amethopterin (2), 5-Fluorouracil (9), Actinomycin D (40) und Cyclophosphamid (85).

Bei fast allen der angeführten Arbeiten wurden nur wenige Fälle untersucht. Auch fehlen Meßwerte über einen längeren Zeitraum hinweg.

Systematische Untersuchungen wurden erst von Hartwich (45) durchgeführt. Es kamen die Zytostatika Ifosfamid, Vincristin, 5-Fluorouracil^R und Adriblastin zur Untersuchung. Außerdem wurde eine Kombinationsbehandlung mit Vincristin und Ifosfamid durchgeführt. Es wurden die Veränderungen der Disaccharidase-Aktivitäten der Dünndarmschleimhaut der Ratte geprüft.

In eigenen Untersuchungen wurden die Auswirkungen von Cytosin-Arabinosid (Alexan^R) auf die intestinalen Disaccharidasen der Ratte geprüft. Als Parameter für die Studien wurden die Disaccharidase-Aktivitäten gewählt, da die Disaccharidasen in Kopplung mit Transportsystemen eine zentrale Stellung bei der Spaltung und Absorption von Zuckern einnehmen (16,17,68,69). Die Disaccharidase-Aktivitäten und die Glukose-Absorption scheinen parallel zu gehen (17). Die Disaccharidasen gelten daher als Indikator für die Glukoseabsorption.

Veränderungen nach 60 mg/kg und 200 mg/kg im Duodenum

Bei einer einmaligen Dosis von 60 mg/kg Cytosin-Arabinosid kam es im Duodenum in den ersten 24 Stunden nach Behandlungsbeginn zu einem Abfall der Disaccharidase-Aktivitäten. In der gleichen Weise fielen die Enzymaktivitäten nach 200 mg/kg, appliziert in Einzeldosen von 8x25 mg/kg innerhalb von 21 Stunden. Nach 60 mg/kg waren die Aktivitäten für die Enzyme Saccharase, Lactase, Maltase und Trehalase innerhalb von 24 Stunden auf 34,5 bis 65,5 % ihrer Ausgangswerte abgefallen.

Wenn dagegen eine über dreifach so hohe Dosis (200 mg/kg) in kleineren Einzeldosen zu 25 mg/kg im zeitlichen Abstand von 3 Stunden gegeben wurde, so sanken die Disaccharidase-Aktivitäten weniger deutlich ab (50 - 70 % der Ausgangswerte). Möglicherweise spielt hierbei neben der Dosishöhe der Zeitfaktor eine wichtige Rolle.

Die relativ niedrige Dosis von jeweils 25 mg/kg führt sicher nicht zu einem vollständigen Stop der Zellteilung, so daß trotz der in rascher Folge (alle 3 Stunden) erfolgenden weiteren Applikationen von jeweils 25 mg/kg die Zellproliferation in einem gewissen Umfang weiter geht.

Bei Betrachtung des weiteren Verlaufs der Aktivitäten waren noch folgende Unterschiede feststellbar: Nach 1 x 60 mg/kg zeigten alle Enzyme im Duodenum, abgesehen von der Lactase, nach 24 Stunden eine Erholungstendenz mit einem Gipfel bei 48 Stunden. Die Werte von Saccharase, Maltase und Trehalase lagen schon zu diesem frühen Zeitpunkt bei 100 bis 150 % ihrer Ausgangswerte. Dieser rasche signifikante Anstieg bis weit über die Norm scheint durch eine reaktive überschießende Produktion von Kryptenzellen erklärbar zu sein (39).

Ein anderes Verhalten der Disaccharidase-Aktivitäten war nach 8x25 mg/kg, appliziert in 21 Stunden, zu beobachten: Der Wiederanstieg der Enzymaktivitäten ging wesentlich langsamer vor sich, obwohl der initiale Abfall nicht tiefer war als nach Behandlung mit nur 60 mg/kg. 48 Stunden nach der letzten Injektion waren annähernd die Ausgangswerte erreicht. Eine überschießende signifikante Erholung zeigte sich erst nach 72 Stunden.

Nach Goldenberg et al. (39) lassen sich die Peaks bei 48 und 72 Stunden eventuell durch eine Zunahme der RNA-Synthese im Verhältnis zur DNA-Synthese erklären. Die RNA-Synthese soll durch eine zytostatische Behandlung weniger beeinträchtigt werden als die DNA-Synthese.

Die Autoren untersuchten dabei die Wirkung von Cytosin-Arabinosid auf Tumoren bei Hamstern und Mäusen. Morphologisch drückte sich dies bei ihnen in einer Zunahme der Zellzahl aus, funktionell in einem Anstieg der Disaccharidase-Aktivitäten.

Leach et al. (51) untersuchten die morphologischen Auswirkungen einer Cytosin-Arabinosid-Behandlung am Darm weißer Mäuse. Sie wählten eine ähnliche Dosierung wie wir in unseren Versuchen. Dabei fanden sie in ihren histologischen Untersuchungen den größten Schaden bereits nach 4 Stunden; dieser blieb über 24 Stunden etwa auf dem gleichen Niveau. Nach diesem Zeitpunkt trat eine rasche Erholung mit einer Restitutio ad integrum nach 72 Stunden ein. Der gesetzte Schaden war demnach nur vorübergehender Art, ähnlich den reversiblen Funktionsstörungen, die wir nachweisen konnten.

Leach et al. deuten die histologischen Schäden als reine Folge einer Suppression der mitotischen Aktivität. Auffällig ist eine Diskrepanz zu unseren histologischen Untersuchungen. Wir fanden lichtmikroskopisch kaum faßbare morphologische Veränderungen. Bei Betrachtung der funktionellen Schäden fällt auf, daß unsere Disaccharidase-Aktivitäten auch sehr früh (tiefste Werte bei 24 Stunden erreicht) statistisch signifikant absanken. Legt man die Ergebnisse von Leach zu Grunde, so macht die Interpretation dieses frühen Abfalles der Disaccharidase-Aktivitäten keine Schwierigkeiten. Die Reduktion ist dann Resultat der morphologischen Schädigung und basiert auf einer Zellverminderung.

Bei Untersuchungen, in denen die Auswirkungen von Ifosfamid, Vincristin, Adriblastin und anderen Zytostatika am Dünndarm der Ratten geprüft wurden, fand Hartwich (45) ebenfalls einen sehr frühen Abfall der Disaccharidase-Aktivitäten, ohne daß gleichzeitig lichtmikroskopisch morphologische Veränderungen nachweisbar waren.

Die Interpretation der Disaccharidasenveränderungen ist unter diesen Voraussetzungen schwieriger, ebenso wie bei unseren Ergebnissen, in denen wir einen frühen Enzymabfall fanden, aber keine lichtmikroskopisch nachweisbaren morphologischen Schäden feststellen konnten. Der Disaccharidasenabfall erfolgte zu einem Zeitpunkt, an dem ein Funktionsausfall auf Grund des histologischen Bildes nicht zu erwarten wäre.

Hartwich (45) kam anhand seiner Untersuchungsergebnisse zu der These, daß funktionelle Schäden innerhalb der ersten 24 Stunden nach Zytostatikagabe möglicherweise nicht nur durch eine Proliferationshemmung zu erklären seien. Der früh einsetzende Abfall der Disaccharidase-Aktivitäten mache einen direkten toxischen Effekt der untersuchten Zytostatika wahrscheinlich. Außerdem findet Hartwich in seinen Untersuchungen mit verschiedenen Zytostatika generell bei 72 Stunden einen zweiten Abfall der Enzymaktivitäten. Er führt diesen Schaden vor allem auf die Mitosehemmung und der daraus folgenden Verminderung von funktionstüchtigen Zellen zurück. In eigenen Untersuchungen konnte nach 48 Stunden bis ca. 10 Tage nach Therapiebeginn mit Cytosin-Arabinosid kein signifikanter Abfall mehr registriert werden. Die Aktivitäten pendelten sich in diesem Zeitraum mit unterschiedlich großen Schwankungen auf Werte um den Normalwert ein.

Nach Verbin (96) ist eine komplette Erholung der Aktivitäten nach einer Funktionsminderung von durchschnittlich 30 bis 40 % der Norm nur möglich, wenn die Dosis eine initiale Hemmung der Proteinsynthese von weniger als 80 % bewirkt hat. Da sich bei unseren Experimenten die Aktivitäten in allen Fällen vollständig erholten, mußte auch bei unserer Dosierung die Hemmung der Proteinsynthese weniger als 80 % betragen haben.

In der Literatur finden sich weiterhin Hinweise, die dafür sprechen, daß die Darmmukosa einen Mechanismus zum schnellen Ausgleich von Verminderungen der zur Enzymproduktion befähigten Zellen besitzt. Eder (25) fand, daß die Krypten eine bereits im Normalzustand im unteren Anteil lokalisierte Zone maximaler Proliferation aufweisen, während in den oberen Kriptenabschnitten noch vor Einsetzen der Differenzierung die Zellneubildungsrate deutlich geringer ist. Bei gesteigerter Zellneubildung, etwa bei Zottenzellverlust, wird besonders diese Zone, und zwar vermutlich über eine Verkürzung der Generationszeit, zur vermehrten Zellneubildung herangezogen. Diese Zone ist zu vergleichen mit den intervillösen Profilen, deren Zellen eine potentielle Bereitschaft zur Zellneubildung besitzen (58,81).

Da bei den vorliegenden Dosierungen nur einmal ein Schaden bzw. ein Schaden durch mehrere Einzeldosen - in kurzen Zeitabständen appliziert - gesetzt wurde, reichten wahrscheinlich die angeführten Mechanismen aus, um einmal den durch Zottenzellverlust bedingten Enzymmangel schnell zu kompensieren und zum anderen sogar eine Überkompensation des Schadens zu bewirken.

Ein beachtenswerter Aspekt ergibt sich noch aus den Untersuchungen von Quastler (79), der angibt, daß die Kryptenzelle durch chemische Toxine höchst verwundbar, während die Zelle der Zotte sehr widerstandsfähig sei. Angenommen, es wären auf Grund dieser Tatsache bei der angewandten Dosierung nur die Zellen der Krypte geschädigt worden, so hätte es nach 24 Stunden noch nicht zu einem Aktivitätsabfall kommen dürfen, da sich der Schaden wegen der verzögerten Auswanderung von Nachschubzellen erst innerhalb von 48 Stunden hätte auswirken können.

Da jedoch der Abfall der Aktivitäten schon nach 24 Stunden auftrat, mußten die Zottenzellen mitbetroffen sein.

Bei der Behandlung mit 200 mg/kg Cytosin-Arabinosid wich im Duodenum als einziges Enzym die Lactase vom üblichen Aktivitätsprofil ab. Ihre Aktivität sank bis zur 72.ten Stunde auf Null und erholte sich sehr langsam, um nach 10 Tagen etwa ihren Ausgangswert zu erreichen.

In anderen Untersuchungen (20) wurde bereits festgestellt, daß die Lactase in vielerlei Hinsicht ein anderes Verhalten zeigt. Von den drei menschlichen β -Galaktosidasen finden sich die β -Heterogalaktosidasen sicher nicht im Bürstensaum; bei der Lactase wird nur vermutet, daß sie im Bürstensaum lokalisiert sei. Die Lactase ist offenbar ein "non-adaptable" enzyme, was ihre Sonderstellung unter den gemessenen Disaccharidasen noch unterstreicht (38). Die Lactase zeigt in unseren Untersuchungen einen Aktivitätsverlauf, wie er auf ein schädigendes Agens allgemein zu erwarten wäre. Nach Schädigung kommt es zu einer schnellen Funktionsminderung, die über längere Zeit dann wieder ausgeglichen wird.

Veränderungen nach 60 mg/kg und 200 mg/kg im Jejunum

Auch im Jejunum zeigte sich nach einer Einzeldosis von 60 mg/kg Cytosin-Arabinosid für die Saccharase, Lactase und Trehalase ein signifikanter Abfall ($p < 0,05$) innerhalb der ersten 24 Stunden nach Behandlungsbeginn. Für die Maltase war der Abfall nicht signifikant. Es ist zu beachten, daß im Gegensatz zum Duodenum im Jejunum alle untersuchten Enzyme ein gleiches Verhalten zeigten. Während es im Duodenum nach dem signifikanten Abfall bei 24 Stunden anschließend zu einem Rebound-Effekt kam mit Anstieg der Aktivitäten weit über ihre Ausgangswerte, lagen die Enzymaktivitäten im Jejunum bis zur 144.ten Stunde unterhalb ihres Ausgangswertes mit einem Minimum bei 72 Stunden.

Erst nach 120 Stunden zeigte sich eine Erholungstendenz, ohne daß jedoch die Aktivitäten über die Normalwerte hinaus anstiegen. In der Spätphase der Behandlung kam es zu lebhaften Änderungen der Aktivitäten mit signifikanten Anstiegen und Abfällen bei 144 und 216 Stunden, die schwer zu erklären sind. Es ist auffällig, daß diese großen Nachschwankungen nach einer Latenzzeit von ca. 5 Tagen auftraten. Obwohl der Schaden nach 24 Stunden im Jejunum geringer war als im Duodenum, waren die Mukosazellen des Jejunums offensichtlich nicht in der Lage, diesen sofort auszugleichen. Erst nach 10 Tagen waren die ursprünglichen Aktivitäten wieder erreicht. Möglicherweise war die Schädigung der intestinalen Disaccharidasen im Jejunum nicht so groß, um als Kompensationsmechanismus eine ebenso wirksame Stimulation der RNA-Synthese anzuregen, wie dies im Duodenum anzunehmen war (39). Zur Reparatur der Jejunal Schleimhaut wurde demzufolge hauptsächlich die Zellpopulation des oberen Kryptenabschnittes, die eine Reservepotenz besitzt, herangezogen.

Wie schon bei 60 mg/kg Cytosin-Arabinosid im Jejunum zeigte sich auch bei der Behandlung mit 8x25 mg/kg, appliziert innerhalb von 21 Stunden, ein gleichsinniges Verhalten aller vier gemessenen Enzyme.

Die tiefsten Werte lagen bereits bei der 14.ten Stunde (= 5x25 mg/kg) nach Behandlungsbeginn. Die Enzymaktivitäten betrugen zu diesem Zeitpunkt zwischen 62 und 81 % der Normalwerte und lagen damit auf einem Niveau, wie auch die zeitlich entsprechenden Werte nach Applikation von 1 x 60 mg/kg Cytosin-Arabinosid in diesem Darmabschnitt. Während jedoch nach 8 x 25 mg/kg ein rascher Wiederanstieg der Aktivitäten zu verzeichnen war, erholten sich die Werte nach 1 x 60 mg/kg nur langsam.

Die fraktionierte Behandlung mit kleinen Einzeldosen wird also besser vertragen von der Darmschleimhaut und der Schaden entsprechend schneller kompensiert. Bei beiden Behandlungsarten kam es zu einer vollständigen und anhaltenden Erholung der Enzymaktivitäten innerhalb von 10 Tagen nach Behandlungsbeginn.

Veränderungen bei Langzeittherapie im Duodenum

Bei der Langzeittherapie (2x6 mg/kg Cytosin-Arabinosid täglich über einen Zeitraum von 10 Tagen appliziert) zeigten im Duodenum die Saccharase, Maltase und Trehalase im Prinzip ein einheitliches Aktivitätsmuster. Die kleinen, kontinuierlich verabreichten Dosen schienen bei 72 Stunden einen maximalen Summationseffekt erreicht zu haben, denn der Schaden war hier während der gesamten Behandlung am größten. Wie bei den vorher besprochenen Behandlungsarten kam es auch hier zu einer schnellen Erholung der Enzymaktivitäten, obwohl die Behandlung fort dauerte. Dies ist erklärbar durch das Rebound-Phänomen. Würde die Therapie abgebrochen, so käme eventuell eine Erholung über die Norm zustande. Durch die kontinuierliche Weiterbehandlung wird wahrscheinlich ein Overshoot supprimiert, so daß die höchsten Erholungswerte nur um den Normalwert zu liegen kommen. Als eindeutigen Effekt der kontinuierlichen Weiterbehandlung mit kleinen Dosen war die Erholung auf nur ca. 70 % der Ausgangswerte anzusehen. Bei den anderen Therapieformen erfolgte immer eine Erholung auf Werte um die Norm.

Die Trehalase war am empfindlichsten getroffen und erholte sich auch am langsamsten. Bei den drei Enzymen Saccharase, Maltase und Trehalase zeigte sich eine Gipfelverschiebung der maximalen Erholungswerte um jeweils 24 Stunden. Die Aktivitäten lagen nach 10-tägiger Behandlung bei ca. 70 % der Ausgangswerte.

Das Verhalten der Lactase ging nur in den ersten 72 Stunden konform mit den anderen Enzymen. Wie bei diesen kam es zu einem gravierenden Abfall bis zur 72.ten Stunde. Zu diesem Zeitpunkt betrug die Lactase-Aktivität nur noch 5 % des Ausgangswertes. Danach stiegen die Aktivitäten nur geringfügig an; ein Rebound-Effekt fehlte. Die Erholung setzte verzögert ein und ging kontinuierlich fort bis zum Versuchsende, wo die Lactase-Aktivität einen Wert von 60 % der Norm erreicht hatte (Abb. 26).

Veränderungen bei Langzeittherapie im Jejunum

Im Gegensatz zum Duodenum zeigten im Jejunum die vier gemessenen Enzyme bei der Langzeitbehandlung ein einheitliches Verhalten. Bis zur 72.ten Stunde nach Behandlungsbeginn kam es wie im Duodenum zu einem signifikanten Abfall auf Werte zwischen 31 und 60 % der Norm. Anschließend erholten sich die Saccharase, Maltase, Trehalase und Lactase gleich schnell bis zur 120.ten Stunde mit Werten zwischen 84 und 125 % der Norm. Bei 192 Stunden kam es nochmals zu einem signifikanten Abfall aller Werte. Der Schaden im Jejunum war schwerwiegender als im Duodenum, dennoch zeigte das Jejunum die Fähigkeit, in den nächsten 48 Stunden diesen Schaden zu kompensieren und zwar besser als die Duodenalschleimhaut. Die letzten gemessenen Werte bei 240 Stunden lagen höher als im Duodenum. Es steht allerdings die Frage offen, ob das Duodenum auf Grund einer längeren Erholungslatenz den Schaden bis zu einem späteren Zeitpunkt ebenso gut kompensiert hätte. Messungen nach der 240.ten Stunde wurden von uns nicht durchgeführt. Bei einem Vergleich mit der Stoßbehandlung (60 mg/kg) ergibt sich ein ähnliches Bild der Aktivitätsverteilung. Auch dort kam es im Jejunum zwischen dem 6. und letzten Tag der Behandlung noch zu signifikanten Auf- und Abwärtsbewegungen der Disaccharidase-Aktivitäten. Anhand dieser Tatsache bleibt unklar, ob diese lebhaften Bewegungen allein auf die kontinuierliche Behandlung zurückzuführen sind.

6. Zusammenfassung

Zytostatika der verschiedenen Substanzgruppen hemmen die Tumorzellproliferation und den Ablauf von Immunreaktionen. Diesen erwünschten Wirkungen stehen unerwünschte gegenüber. Besonders empfindlich gegen Zytostatika ist das Epithel des Magen-Darm-Kanals.

Die morphologischen und proliferationskinetischen Veränderungen der Dünndarmschleimhaut unter einer zytostatischen Behandlung sind durch zahlreiche Untersuchungen gut bekannt. Weniger gut untersucht sind entsprechende funktionelle Veränderungen.

In der vorliegenden Arbeit wurde daher das Verhalten der intestinalen Disaccharidasen unter einer Behandlung mit Cytosin-Arabinosid geprüft. Die Disaccharidasen sind von besonderem Interesse, da sie in Kopplung mit Transportsystemen eine zentrale Stellung bei der Spaltung und Absorption von Zuckern einnehmen.

In den vorliegenden tierexperimentellen Untersuchungen führte Cytosin-Arabinosid in den gewählten Dosierungen im Duodenum und Jejunum der Ratte zu einem signifikanten Abfall der Disaccharidase-Aktivitäten. Während im intensiven Kurzversuch (200 mg/kg innerhalb 21 Stunden appliziert) und bei der Stoßbehandlung (1 x 60 mg/kg) der tiefste Wert schon nach 24 Stunden erreicht war, waren die Disaccharidase-Aktivitäten im Langzeitversuch (2x6 mg/kg über 10 Tage) erst nach 72 Stunden auf ihren tiefsten Wert abgesunken. Danach kam es in allen Versuchen innerhalb von 24 Stunden zu einer Erholung der Disaccharidase-Aktivitäten, in der Mehrzahl der Fälle deutlich über den Ausgangswert hinaus. Innerhalb der nächsten Tage wurden die Ausgangswerte wieder erreicht.

Während der gesamten Versuchsdauer traten lichtmikroskopisch faßbare morphologische Veränderungen an der Dünndarmmukosa nicht auf.

Der anfängliche Abfall der Disaccharidase-Aktivitäten ist demnach nicht durch eine Beeinflussung des Zellteilungsmechanismus zu erklären.

Möglicherweise ist Cytosin-Arabinosid imstande - wie schon von anderen Zytostatika bekannt - die Disaccharidasen in den Bürstensaummembranen der Dünndarmschleimhaut direkt zu schädigen.

Insgesamt kam es unter der Behandlung mit Cytosin-Arabinosid nur zu einer vorübergehenden Verminderung der Disaccharidase-Aktivitäten.

Bei therapeutischer Anwendung von Cytosin-Arabinosid beim Menschen ist daher wohl nicht mit einer schwerwiegenden Disaccharidasen-Maldigestion zu rechnen.

7. LITERATUR

1. Abrams, G.D., Bauer, H., H. Sprinz :
Influence of the normal flora on mucosal morphology in the ileum.
A comparison of germ-free and conventional mice.
Lab. invest. 12 (1963), 355
2. Achord, J. L. :
The effect of methotrexate on rabbit intestinal mucosal enzymes and flora.
Amer. J. Dig. Dis. 14 (1969), 315
3. Adamson, R. H. :
Effect of Cytosine Arabinoside, Adenine Arabinoside, Tilorone, and Rifamycin SV on Multiplication of Herpesvirus saimiri. In Vitro.
Antimicrobial Agents and Chemotherapy 1 (1972), 82
4. Altenbrunn, H.-J., Georgi, P., Berndt, H., Bohn, H., Ch. Pospíšil :
Die Prüfung der Fettresorption mit ^{131}J -Triolein bei Patienten mit malignen Tumoren nach Cyclophosphamid- und Methotrexattherapie.
In : Hoffmann, G : Radioisotope in der Gastroenterologie. Schattauer, Stuttgart 1967.
5. Auricchio, S., Rubino, A., Tosi, R., Semenza, G., Landoldt, M., Kistler, H., A. Prader :
Disaccharidase activities in human intestinal mucosa.
Enzymol. biol. clin. 3 (1963), 193
6. Baserga, A. :
Aregenerative Pathology of the Digestive Tract.
Panminerva medica 2 (1960), 457

7. Bayless, Th.M., N.L. Christopher :
Disaccharidase deficiency.
Amer. J. Clin. Nutr. 22 (1969), 181
8. Berndt, H. :
Malabsorption due to cytostatics.
Digestion 2 (1969), 358
9. Bounous, G., Hugon, J., J.M.Gentile :
Elemental diet in the management of the intestinal
lesion produced by 5-fluorouracil in the rat.
Canad. J. Surg. 14 (1971), 298
10. Brown, H.O., Levine, M.L., M. Lipkin :
Inhibition of intestinal epithelial cell renewal and
migration induced by starvation.
Am. J. Physiol. 205 (1963), 868
11. Chaudhary, M.A., W.A. Olsen :
Jejunal disaccharidase activity in maturity onset diabetes.
Amer. J. Dig. Dis. 18 (1973), 199
12. Chin, K.N., G. Hudson :
Effects of cyclophosphamide on the ultrastructure of
Peyer's patches.
Brit. J. exp. Path. 51 (1970), 563
13. Clauss, G., H. Ebner :
Grundlagen der Statistik.
Berlin-Ost , 1972
14. Cohen, M.I., H.McNamara :
The effect of colchicine on guinea pig intestinal enzyme
activity.
Amer. J. Dig. Dis. 15 (1970), 247

15. Cook, R.M., Powell, P.M, F. Moog :
Influence of biliary stasis on the activity and
distribution of maltase, sucrase, alkaline phosphatase,
and leucyl-naphthylamidase in the small intestine of the
mouse.
Gastroenterology 64 (1973), 411
16. Crane, R. K. :
Absorption of sugars.
In : Handbook of Physiology, Section 6 :
Alimentary canal, Vol. III, Intest. Absorption, 1323
Amer. Physiol. Soc., Washington 1968
17. Crane, R. K. :
Organisation der digestiv-absorptiven Funktion an der
Membran des Bürstensaums.
In : Rommel, K., Clodi, P.H. :
Biochem. und klin. Aspekte der Zuckerabsorption.
Schattauer, Stuttgart 1970
18. Curran, P.F., Webster, E.W., J.A. Hovsepian :
The effect of X-irradiation on sodium and water
transport in the rat ileum.
Radiat. Res. 13 (1960), 369
19. Dahlqvist, A. :
Assay of intestinal Disaccharidases.
Anal. Biochem. 22 (1968), 99
20. Dahlqvist, A. :
Disaccharidasen des Menschen.
Biochemie und Funktion.
In : Rommel, K., P.H. Clodi : Biochem. und klin.
Aspekte der Zuckerabsorption
Schattauer, Stuttgart 1970

21. Dahlqvist, A. :
Method for assay of intestinal disaccharidases.
Analyt. Biochem. 7 (1964), 18
22. Dahlqvist, A., Hammond, J.B., Crane, R.K., Dunphy, I.V.,
A. Littman :
Intestinal lactase deficiency and lactose intolerance in
adults.
Gastroenterology 54 (1968), 807
23. Dawson, A.M. :
Die Manifestation des Disaccharidasen-Mangels.
St. Bartholomew's Hosp., London, E.C. 1, England
24. Deo, M.G., V. Ramalingaswami :
Reaction of the small intestine in induced protein
malnutrition in rhesus monkeys, a study of cell
population kinetics in the jejunum.
Gastroenterology 49 (1965), 150
25. Eder, M. :
Die Bedeutung des "Turnover" von Epithelersatz- und
-differenzierung für die Orthologie und Pathologie
der Dünndarmfunktion.
Verh. d. Dtsch. Ges. f. Path. 53 (1969), 45
26. Eder, M. :
Experimentelle Untersuchungen über Schädigungen der
Darmschleimhaut.
Verh. d. Dtsch. Ges. f. Path. 49 (1965), 330
27. Eder, M. :
Zellerneuerung im Magen-Darm-Trakt.
Verh. d. Dtsch. Ges. f. Path. 50 (1966), 75

28. Eder, M. :
Zur Darstellung von Wachstum und Differenzierung durch
gleichzeitige Autoradiographie mit ^3H -Thymidin und
histochem. Enzymreaktionen.
Naturwissenschaften 51 (1964), 339
29. Eder, M., Rostock, H., G. Vogel :
Die Wirkung von Folsäureantagonisten (Methotrexat) auf die
Regeneration der Darmschleimhaut.
Virchows Arch. path. Anat. 341 (1966), 164
30. Eisenhuth, I., G. Geyer :
Veränderungen am Dünndarmepithel der Albinomaus durch
chronische Behandlung mit den N-Loststoffen Endoxan,
Trimitan und Degranol unter besonderer Berücksichtigung
der Panethschen Körnerzellen.
Acta histochem. (Jena), 25 (1966), 71
31. Emödi, G. :
Virus studies in the treatment of congenital cytomegalovirus
infections by cytosine arabinoside.
Helv. Paediat. Acta 27 (1972), 557
32. Folin, O., V. Ciocalteau :
On tyrosine and tryptophane determinations in proteins.
J. Biol. Chem. 73 (1927), 627
33. Fredericsson, B., C. Wirsén :
In vivo-effect of colchicine on alkaline phosphatase
of rat intestinal epithelium.
Exp. Cell. Res. 10 (1956), 749
34. Fromm, H., J.B. Rodgers jr. :
Effect of aminopterin on lipid absorption :
depression of lipid-reesterifying enzymes.
Am. J. Physiol. 221 (1971), 998

35. Gallagher, N.D., P.J. Mearrick :
Precocious development of intestinal disaccharidases in
rats treated with cortisone :
The effect of Actinomycin D.
Gut 10 (1969), 951
36. Gasic, S., Klotz, H., N. Steffenelli :
Änderungen der Resorption von Eisen durch den
Dünndarm der lebenden Ratte unter der Wirkung einer
Colchizinverbindung.
Wiener Klin. Wschr. 83 (1971), 921
37. Gelfaut, S. :
Inhibition of cell division : A critical and
experimental analysis.
Int. Rev. Cytol. 14 (1963), 1
38. Gilat, T., Russu, S., Gelmann-Maladri, E., T.A.M.Aldor :
Lactase in man : a nonadaptable enzyme.
Gastroenterology 62 (1972), 1125
39. Goldenberg, D.M., Biro, V., Elster, K., Schricker, K.Th.,
H.H. Sögtrop :
Laboratory studies on the Pharmacology, Toxicology,
and Antitumor Action of Cytosin-Arabinosid.
Arzneimittel-Forschung 19 Beih. (1968), 31
40. Grand, R.J., Chong, D.A., K.J.Isselbacher :
Intracellular processing of disaccharidases :
The effect of Actinomycin D.
Biochem. Biophys. Acta 261 (1972), 341
41. Grand, R.J., St. Jaksina :
Additional studies on the regulation of carbohydrate-
dependent enzymes in the jejunum :
Changes in amino acid pools, protein synthesis, and the
effect of Actinomycin D.
Gastroenterology 64 (1973), 429

42. Gray, T. C. :
Dietary control of disaccharidases.
Gastroenterology 56 (1969), 638
43. Hall, T. C. :
Treatment of Varicella-Zoster with Cytosine-Arabinoside.
Arzneimittelforschung 18 (1968), 712
44. Hansen, H.Th., Drube, H.Chr., Klein, U.E., K. Zielke :
Untersuchungen über Muster und Verteilung von Enzymen
in der Schleimhaut des Gastrointestinaltraktes.
Gastroenterology 106 (1966), 345
45. Hartwich, G. :
Disaccharidasen der Dünndarmschleimhaut unter zytostatischer
Behandlung.
Experimentelle Untersuchungen am Rattendarm.
Habilitationsschrift, Erlangen 1974
46. Hooper, C.S., M. Blair :
The effect of starvation on epithelial renewal in the
rat duodenum.
Exp. Cell. Res. 14 (1958), 175
47. Jacobson, W. :
The mode of action of folic acid antagonists on cells.
J. Physiol. (Lond.) 123 (1954), 603
48. Juel-Jensen, B.E. :
Severe generalized primary Herpes treated with Cytarabine.
Brit. med. J., 1970, 154
49. Koldovsky, O., Jirsova, V., A. Heringova :
Effect of aldosterone and corticosterone on β -galactosidase
and invertase activity in the small intestine of rats.
Nature (Lond). 206 (1965), 300

50. Kruskal, W. H. :
A non-parametric test for the several sample problem.
Ann. math. Statist. 23 (1952), 525
51. Leach, W.B., Laster, W.R.jr., Mayo, J.G., Griswold, D.P.jr.,
F.M. Schabel jr. :
Toxicity studies in mice treated with 1- β -D-Arabinofuranosyl-
cytosine (ara-C).
Cancer Research 29 (March 1969), 529
52. Leblond, C.P., B. Walker :
Renewal of cell populations.
Phys. Rev. 36 (1956), 255
53. Leblond, C.P., Messier, B., Kopriwa, B. :
Thymidine- 3 as a tool of the investigation of the renewal
of cell populations.
Lab. invest. 8 (1956), 296
54. Leblond, C.P., C.E. Stevens :
The constant renewal of the intestinal epithelium in the
albino rat.
Anatomical Record 100 (1948), 357
55. Leichter, J. :
Effect of dietary lactose on intestinal lactase activity
in young rats.
J. of Nutr. Vol. 103 No. 3 (1973)
56. Levin, R. J. :
Effect of colchicine on intestinal function in the rat.
Gut 7 (1966), 250
57. Littman, A., J.B. Hammond :
Diarrhea in adults caused by deficiency in intestinal
disaccharidases.
Gastroenterology 48 (1965), 237

58. Loehry, C. A. :
Cell turnover in the rat small intestinal mucosa :
An appraisal of cell loss.
Gut 10 (1969), 13
59. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A. L., R.J. Randall :
Protein measurement with the Folin-phenol-reagent.
J. Biol. Chem. 193 (1951), 265
60. Loehry, C.A., B. Creamer :
Three-dimensional structure of the human small intestinal
mucosa in health and disease.
Gut 10 (1969), 6
61. Loehry, C.A., B.Creamer :
Three-dimensional structure of the rat small intestinal
mucosa related to mucosal dynamics.
Gut 10 (1969), 112
62. Lojda, Z. :
Histochemie der Disaccharidasen und anderer Enzyme im
Bürstensaum des Darms.
In : Rommel, K., P.H. Clodi: Biochemische und klinische
Aspekte der Zuckerabsorption.
Schattauer, Stuttgart 1970
63. Löhrs, U., Wiebecke, B., M. Eder :
Morphologische und autoradiographische Untersuchungen der
Darmschleimhautveränderungen nach einmaliger Injektion von
1,2-Dimethylhydrazin.
Z. ges. exp. Med. 151 (1969), 297
64. London, D.R., Cuatrecasas, P., S.J. Birge jr. :
Metabolism of lactose by intestinal mucosa from normal and
lactase deficient subjects.
Brit. med. J. 1 (1967), 524

65. Marano, R., Pastore, G., Manghisi, O., O. Schiraldi :
Effect of aminopterin and antibiotics on disaccharidase
activity of the rat small bowel.
Experientia (Basel) 25 (1969), 1284
66. McDonald, W.C., Trier, J.S., N.B. Everett :
Cell proliferation and migration in the stomach, duodenum,
and rectum of man.
Radioautographic studies.
Gastroenterology 46 (1964), 405
67. McNeill, L.K., J.R. Hamilton :
The effect of fasting on disaccharidase activity in the
rat small intestine.
Pediatrics 47 (1971), 65
68. Miller, D., R.K. Crane :
The digestive function of the epithelium of the small intestine.
I. An intracellular locus of disaccharide and sugar
phosphate ester hydrolysis.
Biochem. Biophys. Acta 52 (1961), 281
69. Miller, D., R. K. Crane :
The digestive function of the epithelium of the small
intestine.
II. Localisation of disaccharide hydrolysis in the isolated
brush border portion of intestinal epithelium cells.
Biochem. Biophys. Acta 52 (1961), 293
70. Millington, P.F. :
Studies of the effects of aminopterin on the crypts of
Lieberkühn in rats.
Zeitschr. f. Zellforsch. 65 (1965), 607

71. Millington, P.F., Fineau, J.B., Forbes, O.C., A.C. Frazer :
Studies of the effects of aminopterin on the small intestine
of rats.
I. The morphological changes following a single dose
of aminopterin.
Exp. Cell. Res. 28 (1962), 162
72. Müller, W.E. G. :
Action of 1- β -D-arabino-furanosyl-cytosine on Mammalian
Tumor Cells.
Inhibition of Mammalian and Oncogenic Viral Polymerases.
Europ. J. Cancer 8 (1972), 421
73. Myren, J., Luketic, G.C., Ceballos, R., Sachs, G., B.J.Hirschowitz :
Effects of colchicine on intestinal mucosal dehydrogenases.
Amer. J. Dig. Dis. 11 (1966), 394
74. Pfanzagl, J. :
Allgemeine Methodenlehre der Statistik II.
Sammlung Göschen, Berlin 1968, 3. Auflage
75. Pietsch, P. :
Pathologie und Klinik medikamentöser Schäden des
Verdauungskanals.
G. Fischer, Jena 1965
76. Polachowsky, K. :
Action of the trenimon "Bayer" cytostatic on the
morphological picture and some histochemical reactions of
the intestinal mucosa of the rat.
Folia histochem. cytochem. 7 (1969), 315
77. Prasa, K.N., J.W. Osborne :
Influence of beta-mercapto-ethylamine on mucosal uptake
of ^{59}Fe by intestine-irradiated rats.
Int. J. radiat. Biol. 7 (1963), 245

78. Prosper, J., R.L. Murray :
Protein starvation and the small intestine.
Gastroenterology 55 (1968), 223
79. Quastler, H., F.G. Sherman :
Cell population kinetics in the intestinal epithelium
of the mouse.
Exp. Cell. Res. 17 (1959), 420
80. Race, T.F., Paes, I.C., W.W. Faloon :
Intestinal malabsorption induced by oral colchicine.
Comparison with neomycin and cathartic agents.
Amer. J. Med. Sci. 259 (1970), 32
81. Rieken, E.O., G.A. Martini :
Die Klassifizierung pathologischer Dünndarmschleimhaut-
bilder.
Dtsch. Med. Wschr. 98 (1973), 998
82. Robinson, J.W.L. :
Experimental studies on the absorption of amino acids
by the intestine in vitro.
In : H. Hoffmanns : Radioisotope in der Gastroenterologie.
Schattauer, Stuttgart 1967
83. Robinson, J.W.L. :
Experimental intestinal malabsorption states and their
relation to clinical syndromes.
Klin. Wschr. 50 (1972), 173
84. Roche, A.C., Bognel, J.Cl., Bognel, C., J.J. Bernier :
Correlation between the histological changes and glucose
intestinal absorption following a single dose of
5-fluorounacil.
Digestion 3 (1970), 195

85. Rommel, K., Naupert, Ch., K. Grimmel :
Wirkung von Cyclophosphamid (Endoxan) auf die Disaccharidasen-
aktivität der Dünndarmschleimhaut der Ratte.
Z. Gastroenterologie 7 (1969), 474
86. Rosensweig, N.S., R.H. Herman :
Time response of jejunal sucrase and maltase activity
to a high sucrose diet in normal mucosa.
Gastroenterology 56 (1969), 500
87. Ruppin, H., Domschke, W., Classen, M., L. Demling :
Intestinale Disaccharidasen beim juvenilen Diabetes mellitus.
28. Tagung d. Dtsch. Ges. f. Verd.- u. Stoffwechselkrhntn. 1973
88. Sachs, L. :
Statistische Auswertungsmethoden.
Heidelberg 1971, 3. Auflage
89. Saito, M. :
Daily rhythmic changes in brush border enzymes of the small
intestine and kidney in rat.
Biochem. Biophys. Acta 286 (1972), 212
90. Sherman, F.G., Quastler, H. :
DNA-synthesis in irradiated intestinal epithelium.
Exp. Cell. Res. 19 (1960), 343
91. Takano, J. :
Intestinal changes in proteindeicient rats.
Exptl. Molec. Pathol. 3 (1964), 224
92. Trier, J.S. :
Morphologic alterations induced by methotrexate in the
mucosa of human proximal intestine.
I. Serial observations by light microscopy.
Gastroenterology 42 (1962), 295

93. Trier, J.S. :

Morphologic alterations induced by methotrexate in the mucosa of human proximal intestine.

II. Electron microscopic observations.

Gastroenterology 43 (1962), 407

94. Trier, J. S. :

Morphology of the epithelium of the small intestine.

In : Handbook of Physiology, Section 6 :

Alimentary canal. Vol. III. Intestinal absorption.

Amer. Physiol. Soc., Washington 1968

95. Trier, J.S., T. H. Browning :

Morphologic response to the mucosa of human small intestine to X-ray exposure.

J. Clin. Invest. 45 (1966), 194

96. Verbin, R.S., Liang, H., Saez, L.M., Dilniso, G., Goldblatt, P.J., E. Farber :

Effects of inhibitors of protein synthesis on structure and function of the crypts of the small intestine.

Exper. Cell. Res. 65 (1971), 81

97. Younoszai, M.K., H.P. Schedl :

Effect of diabetes on the intestinal disaccharidase activities.

J. Lab. Clin. Med. 79 (1972), 579

LEBENS LAUF

Am 30.3.1950 wurde ich als Tochter von Max und Josefine Hell in Ingostadt geboren.

Von 1956 bis 1961 besuchte ich die Volksschule in Kipfenberg, von 1961 bis 1970 das Willibald-Gymnasium in Eichstätt, wo ich im Juni 1970 die Reifeprüfung bestand.

Im Wintersemester 1970/71 begann ich das Medizinstudium an der Universität Erlangen.

Nach erfolgreicher ärztlicher Vorprüfung im Februar 1973 bestand ich im Juli 1976 das medizinische Staatsexamen.

Erlangen, im Juli 1976

Herma Maximiliane Maria Gerngroß-Hell,
geb. Hell

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 8520 Erlangen, Hauptstr. 109 (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990